

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

Ana Beatriz Lopes

IMPLICAÇÕES ANATÔMICAS E MORFOMÉTRICAS DE *Bartlettia stefanensis*

(MORICAND, 1856): Um estudo comparativo entre bacias sul-americanas.

Diamantina

2019

Ana Beatriz Lopes

**IMPLICAÇÕES ANATÔMICAS E MORFOMÉTRICAS DE *Bartlettia stefanensis*
(MORICAND, 1856): Um estudo comparativo entre bacias sul-americanas.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre.

Orientador: Rodrigo César Marques

Diamantina

2019

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

L864i

Lopes, Ana Beatriz.

Implicações anatômica e morfométricas de *Bartlettia stefanensis* (MORICAND, 1856)(Bivalvia: Unionoida): Um estudo comparativo entre bacias sul-americanas / Ana Beatriz Lopes, 2019.
59 p. : il.

Orientador: Rodrigo César Marques

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Taxonomia. 2. Morfometria. 3. Anatomia. 4. Bivalve. 5. Biodiversidade. I. Marques, Rodrigo César. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 578.012

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa – CRB6/2972

ANA BEATRIZ LOPES

IMPLICAÇÕES ANATÔMICAS E MORFOMÉTRICAS DE *Bartlettia stefanensis* (MORICAND, 1856): Um estudo comparativo entre bacias sul-americanas.

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL,
nível de MESTRADO como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MESTRA EM BIOLOGIA ANIMAL

Orientador (a): Prof. Dr. Rodrigo César
Marques

Data da aprovação : 25/10/2019


Prof.Dr. RODRIGO CÉSAR MARQUES - UFVJM


Prof.Dr. ALEX SANDER DIAS MACHADO - UFVJM


Prof.Dr.ª TEOFANIA HELOISA DUTRA AMORIM VIDIGAL - UFMG

DIAMANTINA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

DIAMANTINA – MINAS GERAIS

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



ATESTADO DE DEFESA POR VIDEOCONFERÊNCIA

Atesto, para os devidos fins, que no dia 25 de outubro de 2019, às 14 hs 00 min, nas dependências da UFVJM – em (Diamantina ou Teófilo Otoni), foi realizada a defesa de dissertação/tese do(a) discente Ana Beatriz Lopes com o trabalho intitulado “.....*Implicações antômicas e morfométricas de Bartlettia stefanensis (Moricand, 1856): Um estudo comparativo entre bacias sula americanas....*”, no Programa de Pós-graduação em Biologia Animal.

Na qualidade de presidente da banca, atesto (a) Prof. (a) Dr. (a) Teofânia Vidigal (docente do ICB-UFMG) participou através de videoconferência.

Em virtude da participação remota do membro da banca acima indicado, eu, Rodrigo Cesar Marques, enquanto servidor público, no gozo de fé pública, assino no lugar desse na Ata de Defesa e na Folha de Aprovação da referida defesa.

Por ser verdade, dou fé e assino o presente atestado.

Diamantina, 05 de Novembro de 2019.

Presidente da Banca

Aos meus pais, irmãos e esposo pelo carinho e dedicação.

Aos amigos pela compreensão.

AGRADECIMENTOS

Para a conclusão de um grande trabalho não poderia deixar de agradecer a todos. Primeiramente a meu orientador Rodrigo por toda disponibilidade, conhecimento e dedicação.

Agradeço a todos do LABESE, em especial a Julya por ser tão amiga, e com muita alegria em ajudar no resultado final deste trabalho.

Ao meu esposo Lucas, pelo amor, paciência, amizade, força nos momentos que exigiam um pouco mais de compreensão e persistência. Obrigada por ser meu companheiro.

Aos meus pais, Ailsie e Bernadete, por me motivarem e inspirarem, pela força e dedicação, além do amor incondicional e apoio. Aos meus irmãos Ailsie Junior e Amanda pelo amor, carinho e por alegrar meus dias. A minha amada avó Mercês pela sabedoria e incentivo.

A todos os meus amigos, pois sem eles a caminhada até aqui seria muito mais árdua, obrigada aos meus grandes amigos.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal (PPGBA), docentes, coordenação e colegiado pela oportunidade, dedicação e suporte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), pelo empréstimo do material para a elaboração e conclusão deste projeto.

Ao Laboratório de Histologia do DCBio da UFVJM, em especial ao técnico Samuel, pelo suporte na elaboração das lâminas histológicas.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que se fizeram presente e de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada a Deus pelas bençãos e sucesso de um desafio concluído!

RESUMO

Propõe-se aqui um estudo taxonômico baseado em caracteres morfológicos e anatômicos de *Bartlettia stefanensis* (Bivalvia: Unionoida), espécie tradicionalmente conhecido como “ostras de rio” encontrada em duas grandes bacias hidrográficas sul-americanas – Bacia do Amazonas e Bacia do Paraná-Prata (principalmente na região do Pantanal) com o objetivo de testar a existência de integração e modularidade neste grupo, e se existem variações anatômicas regionalizadas a determinadas regiões. *B. stefanensis* é reconhecido pela sua grande variação do contorno das valvas, possivelmente relacionado a fatores ambientais. Os três primeiros componentes principais explicam aproximadamente 52% de toda a variação. O primeiro componente principal explica por volta de (24,5%) está associado à angulação da parte anterior. O segundo componente principal (13,9%), está relacionado com as variações da região anterior, conjuntamente a variação linha palial. O terceiro componente principal (12,8%) é referente ao desenvolvimento da parte anterior, e à altura das valvas. Não houve diferenças visíveis nos componentes principais entre as valvas e localidades. A variação canônica por grupos demonstrou um decréscimo nas distâncias de Mahalanobis, bem como aumento na sobreposição das distribuições de *scores* canônicos, tanto entre as bacias quanto entre as valvas para cada separação em módulos. Dessa forma os resultados apresentados, afirmam que as diferenças apontadas não suportam uma possível divisão entre as espécies para cada bacia. Mesmo sendo uma espécie com uma grande variação no contorno da concha, reconhecemos até três níveis de modularidade que possivelmente está relacionado ao modo de vida no substrato. Os resultados anatômicos permitiram-nos visualizar algumas estruturas que ainda não foram citadas na literatura, tais como: a) de uma assimetria no posicionamento gânglio pedioso; b) com a presença de uma projeção globulosa nas aurículas; c) estruturas renopericardiais, como o nefridióporo e nefróstoma; d) delimitação no número de aberturas dos divertículos digestivos na superfície interna do estômago. Além destas características não descritas, o que encontramos aqui é que muitas características dadas como típicas de Etheriidae, podem ser plesiomorfias em relação à Mycetopodidae.

ABSTRACT

Geometric morphometry and anatomy data can be used as proxies to species delimitation, mainly in the absence of molecular data. Thus, a taxonomic study based on morphological and anatomical characters of *Bartlettia stefanensis* (Bivalvia: Unionoida) was carried on. *B. stefanensis* a species traditionally related to the “river oysters” found in two large South American watersheds - Amazon and Parana-Plata Basin (mainly in Pantanal region), recognized for its wide variation in valve outline, possibly related to environmental factors. Here we tested the presence of modularity in the species, and if there are regionalized anatomical variations to certain in a geometric morphometry framework. As results, the first three major components explain approximately 52% of all variation. The first major component explains around (24.5%) is associated with the anterior part angulation. The second main component (13.9%), is related to the anterior region variations, together with the palial line variation. The third major component (12.8%) refers to the development of the anterior part, and the height of the valves. There were no visible differences in major components between valves and localities. The canonical variation by groups showed a decrease in the distances of Mahalanobis, whereas an increase in the overlap of canonical score distributions, between basins and between valves for each separation into modules. Thus, the results show that the differences do not support a possible division between species for each basin. In spite of the well known wide range of outline variation, we recognized 3 levels of modularity, possibly related to lifemode in substrate. The anatomical results show some structures that have not been cited in the literature so far, such as: a) asymmetry in positioning of pedal ganglion; b) the presence of a globular projection in the auricles; c) renopericardial structures, such as nephridiopore and nephrostome; d) the exact number digestive diverticula aperture in internal stomach surface. In addition, to many of characters described here are typical of Etheriidae, although as putative plesiomorphic features comparing with Mycetopodidae.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivos específicos.....	4
3. METODOLOGIA.....	5
3.1 Coletas de dados.....	5
3.2 Morfometria Geométrica.....	5
3.3 Pontos Homólogos (Marcos anatômicos.....	7
3.4 Determinação do Morfoespaço.....	9
3.5 Análise Canônica Variância, Simetria e influência da distância.....	9
3.6 Hipóteses de Modularidade.....	10
3.7 Anatomia.....	10
3.8 Histologia.....	12
4. RESULTADOS.....	13
4.1Morfometria Geométrica.....	13
4.1.1 Determinação do morfoespaço.....	13
4.1.2 Modularidade morfológica.....	14
4.1.3 Análise com os módulos.....	16
4.1.4 Variação canônica.....	17
4.1.5 Assimetria.....	19
4.1.6 Influência da distância.....	20
4.2 Descrição.....	20
5.DISCUSSÃO.....	32
5.1Morfometria Geométrica.....	32
5.2 Características anatômicas.....	33
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS.....	38
APÊNDICE- A.....	45

1. INTRODUÇÃO

Os bivalves da Ordem Unionoida, comumente chamados de náíades ou mexilhões de água doce, estão presentes nas bacias hidrográficas de todos os continentes, exceto a Antártica (GRAF e CUMMING, 2007). É a maior ordem dos bivalves de água doce, com seis famílias, 181 gêneros e mais de 800 espécies, sendo predominantemente filtradores semi-infaunais (BOGAN & HOEH, 2008). As potenciais sinapomorfias morfoanatômicas deste grupo estão relacionadas ao marsúpio nas demibrânquias interna para o desenvolvimento dos ovos e utilizam geralmente peixes como um hospedeiro para o desenvolvimento larval (ORTMANN, 1921), além da grande espessura das valvas, muitas vezes com camadas de perióstraco entre as camadas calcárias das valvas, uma característica associada a adaptação ao ambiente fluviolacustre (GRAF & CUMMING, 2007).

Dentro da Ordem Unionoida existem atualmente três superfamílias Unionoidea, Hyrioidea e Etherioidea (LOPES-LIMA *et al.*, 2017). Muitos destes grupos são reconhecidos pelos tipos larvais - gloquídio ou lasídio - e características branquiais (GRAF e CUMMINGS, 2006). Dentro destas três superfamílias existem seis famílias, sendo que Mycetopodidae, Etheriidae e Iridinidae pertence a superfamília Etherioidea, enquanto Margaritiferidae e Unionidae estão alocados em Unionoidea e Hyriidae alocado a Hyrioidea, (BOGAN & HOEH, 2000, LOPES-LIMA *et al.*, 2017). A família Etheriidae é a menor da ordem em composição taxonômica e apresenta quatro gêneros: *Etheria*, *Acostaea*, *Pseudomulleria* e *Bartlettia* (YONGE, 1962).

Os membros desta família Etheriidae, tradicionalmente relacionadas às “ostras de água doce” ou “ostras de rio” têm como característica a alta variabilidade no contorno das valvas (lembrando as ostras verdadeiras de Pteriomorpha, filogeneticamente distantes). Esta alta variabilidade no contorno e forma pode estar associada ao substrato a qual os espécimes são encontrados, além de apresentar redução da musculatura adutora anterior ou até mesmo a ausência (como em *Acostaea* YONGE, 1978; BOGAN E HOEH, 2000). A família apresenta uma distribuição em alguns continentes. *Bartlettia* com ocorrência no Bacia do Alto Amazônica, (Brasil, Equador e Peru) e na Bacia do Rio Paraguai, próximo das regiões inundáveis do Pantanal. *Acostaea*, endêmico do Vale do Cauca na Colômbia. *Etheria* com ampla distribuição em rios africanos, embora ambos os táxons apresentem uma morfologia de charneira semelhante aos mycetopodídeos. *Pseudomulleria* ocorre no sul da Índia, com charneira bem característica, de difícil comparação

com os demais unionóideos. A ausência dos demais táxons de Etheriidae na proposta filogenética, tem posto dúvidas sobre a validade desta família (YONGE, 1969; BOGAN e HOEH, 2000; SIMONE, 2006). Com a inclusão de dados morfológicos sendo analisados com metodologia filogenética, conjuntamente aos dados moleculares a partir dos anos 90 tem demonstrado três conjuntos de cenários possíveis: parafilético em relação a Mycetopodidade (BOGAN e HOEH, 2000; HOEH *et al.*, 2009; GRAF, 2013); parcialmente dentro de Mycetopodidae (GRAF 2000a) e monofilético (GRAF & CUMMINGS, 2006, embora seja contestado por um dos autores em (GRAF, 2000a; GRAF, 2013). O interessante é que *Bartlettia* não aparece em nenhuma proposta filogenética com dados moleculares, e sim com base unicamente em dados de morfologia obtidos diretamente da literatura (retirados de Mansur e Silva, 1990) como apresentado em (BOGAN e HOEH, 2000; GRAF, 2013).

Bartlettia é monotípico, e o único representante para este gênero é a espécie *Bartlettia stefanensis* (Moricand, 1856). Esse gênero possui o tipo larval lasídio, característica comum para os mycetopodídeos, como descrito por (BONETTO, 1997), as características das brânquias também são similares a outros membros do grupo Mycetopodidae, como esclarecido por (MANSUR e SILVA, 1990). *Bartlettia* tem como habitat relacionados à adaptação da porção anterior em rocha submersas a água e/ou em frestas de substrato argiloso endurecido (laterita), (AMARAL *et al.*, 2008), e por outro lado totalmente internalizado seguindo ilustrações feitas por (BURMEISTER, 1988).

O histórico taxonômico de *Bartlettia stefanensis* se inicia com a descrição da espécie vinculada ao gênero *Etheriia*, intitulado como *Etheriia stefanensis* por MORICAND (1856). O gênero *Bartlettia* foi proposto por (ADAMS, 1866), com a inserção da espécie neste novo gênero. Deste então, outras sinonímias foram adicionadas, como *Bartelettia stephanensis* (SOWERBY, 1872), *Rochanaia gutmansii* (MORRETES, 1941), *Bartlettia stefaninii* (MODELL, 1942), *Etheria stefanesis* (MILLARD, 2001) e *Bartlettia stenanii* (SIMONE, 2006). Uma das sinonímias como a proposta por (MORRETES, 1941) tem como descrição uma suposta nova espécie de ocorrência no Rio Nioaque – Mato Grosso na Bacia do Paraná. Mas, após esta proposta, MORRETES, (1949), sem explicações detalhadas, propõe que *Rochanaia* seria sinônimo de *Bartlettia*, e então os espécimes *Bartlettia gutmansii* seria de ocorrência da bacia do Paraná e *Bartlettia stefanensis* seria outra espécie de ocorrência amazônica. No entanto, autores seguintes

não consideraram válida essa hipótese (MANSUR e SILVA, 1991; VALDIVIA *et al.*, 1995; MILLARD, 2001; SIMONE, 2006; PEREIRA *et al.*, 2013).

A morfologia do grupo Unionoida tem sido utilizada como base para a taxonomia desde proposta de Linnaeus (1758), e assim vem recorrendo até os últimos anos para a identificação das espécies por meio de chaves, na conversação de espécies, também contribui na identificação de novas espécies, na taxonomia do grupo e na sistemática, principalmente para os unionóideos como argumentado por (PIMPÃO, 2010). Além disso, a morfologia está sendo utilizada juntamente com dados moleculares para a elaboração de análise filogenética (GRAF, 2002; GRAF, 2006; WHELAN *et al.* 2011; GRAF, 2013). Em geral, para os unionóideos alguns trabalhos com os estudos morfoanatomicos foram desenvolvidos (MANSUR, 1974; MANSUR e VEITENHEIMER, 1988; MANSUR e SILVA, 1990; AVELAR, 1993; SIMONE, 1994; CALLIL & MANSUR, 2005; veja também BONETTO, 1967 e SIMONE, 2006), para etheriídeos também há estudos anatômicos e sistemáticos, sendo que o trabalho principal ainda é o estudo de YONGE (1962) com *Etheria*, YONGE (1969) com *Acostaea*, WOODWARD (1898) com *Pseudomulleria* e MANSUR e SILVA (1990) com *Bartlettia*.

Por outro lado, a exploração de dados morfológicos e histológicos vem ganhando espaço no grupo Unionoida. Grande parte destes estudos está relacionado às estruturas específicas de órgãos internos, como sistema reprodutivo de *Anodontites trapesialis* (CALLIL e MANSUR, 2007), marsúpio branquial de *Diplodon expansus* (NOGUEIRA, 2013) ou mesmo uma visão anatômica geral em *Villosa nebulosa*, *Fusconaia cerina* e *Strophitus connasaugaensis* (ANDREW e STEPHEN, 2013). Em *Bartlettia* o conhecimento da anatomia está relacionado aos trabalhos de macroanatomia e histologia (MANSUR E SILVA, 1990) e com dados morfoecológicos (BURMEISTER, 1988).

A morfometria traz novas perspectivas no estudo dos organismos: a) estudo das variações como respostas ambientais (SILVEIRA *et al.*, 2010). b) quantificação das diferenças que podem ser utilizadas na diferenciação taxonômica (PERES-NETO, 1995); c) em um contexto filogenético, onde as mudanças dadas por vetores podem ser igualmente quantificadas (FORNEL e CORDEIRO-ESTRELA, 2012). Pela sua forma objetiva de mensuração e aquisição de dados, a morfometria apresenta algumas vantagens sobre técnicas anatomohistológicas e moleculares, principalmente o baixo custo e relativa rapidez o material pode ser facilmente obtido para a

análise, ainda mais em moluscos onde a concha resistente a decomposição em relação ao tecido interno (CALLE, 2008; SILVEIRA *et al.*, 2010).

Dessa forma propõe-se aqui utilizar o conjunto de técnicas anatomicohistológicas e morfométricas conjuntamente, procurando dar robustez a investigação taxonômica intraespecífica de *Bartlettia* do continente sul-americano. Também utilizaremos metodologias de morfometria geométrica baseada em pontos homólogos, para avaliar especialmente se há diferenças nas populações da bacia do alto Amazonas e a região da bacia do Paraná que suportem uma divisão em duas espécies, como proposto por Morretes (1941). O estudo morfoanatômico de *Bartlettia* trará à luz do conhecimento malacológico as seguintes esclarecimentos: a) anatômicas, pela descrição mais completa de estruturas e órgãos, como observado há uma carências de dados anatômicos no trabalho feito por Mansur e Silva, 1990; b) taxonômicas, pela possibilidade de testar se os nomes inicialmente propostos na literatura podem, de fato, representar espécies a parte.

2. OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo testar se a *Bartlettia stefanensis* é uma única espécie com distribuição disjunta ou, ao menos, duas espécies que ocorrem em diferentes bacias Amazônica e do Paraná.

2.1 Objetivos específicos

- Descrever o morfoespaço ocupado pela forma da concha de *B. stefanensis*, por meio de análises de componentes principais;
- Testar se existe modularidade em conchas de *B. stefanensis*.
- Avaliar se existem variações anatômicas e morfométricas regionalizadas a determinadas regiões e, desta forma, discutir a validade taxonômica de *Bartlettia stefanensis*.
- Descrever detalhes anatômicos de diversos sistemas que ainda não foram descritos na literatura para a espécie.

3. METODOLOGIA

3.1 Coletas de dados

Foi feita uma seleção inicial contatando as principais instituições fiéis depositárias de coleções malacológicas de bivalves de água doce na Europa, Estados Unidos e Brasil, enviando material por empréstimo ou fotos das partes conquiliológicas. As partes internas bem fixadas, suficientes para realização de prospecção anatômica e histológica foram obtidas exclusivamente da coleção do Museu de Zoologia (MZSP) e fotos originais de outras coleções em instituições fiéis depositárias, como University of Florida (UF), Field Natural History Museum (FMNH), Museum of Comparative Zoology (MCZ), Smithsonian National History Museum (USNM), American Natural History Museum (AMNH), Delaware Museum of Natural History (DMNH), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (IRNSB), Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg (SMF), (Tabela 1).

3.2 Pontos Homólogos (Marcos anatômicos)

Estabeleceram-se dezessete marcos anatômicos (*landmarks*) em toda a extremidade em base as topologias das conchas de *B. stefanensis* (Tabela 2 e Figura 1), com o intuito de incorporar o maior número de pontos em comum a todos os espécimes. Os marcos anatômicos foram marcados utilizando-se do programa TpsDig232., na mesma ordem para todos os indivíduos e as escalas foram aplicadas convertendo as coordenadas em unidade de pixels para milímetros.

Tabela 2: Descrição dos pontos homólogos da valva de *B. stefanensis*.

Marco 1	Umbo
Marco 2	Vértice anterior da Inserção posterior do ligamento interno
Marco 3	Vértice posterior da Inserção posterior do ligamento interno
Marco 4	Máxima curvatura da parte posterior
Marco 5	Máxima curvatura da parte mais ventral da região posterior
Marco 6	Margem mediana da curvatura ventral
Marco 7	Máxima curvatura da margem ventral da projeção anterior

Tabela 2: Descrição dos pontos homólogos da valva de *B. stefanensis*. (Continuação)

Concha	Marco 8	Máxima curvatura da margem dorsoanterior da projeção anterior
	Marco 9	Parte inferior da Cicatriz muscular anterior
	Marco 10	Parte superior da Cicatriz muscular anterior
	Marco 11	Parte superior da Cicatriz muscular posterior
	Marco 12	Parte inferior da Cicatriz muscular posterior
	Marco 13	Máxima curvatura da parte posterior da linha palial
	Marco 14	Margem ventral da curvatura da parte posterior da linha palial
	Marco 15	Ponto que perfaz uma linha com o ponto 6 perpendicular, ao eixo anteroposterior (representado pela linha ligando o marco 9 ao 12)
	Marco 16	Ponto mais anterior da curvatura ventral e posterior a base da projeção anterior
	Marco 17	Ponto dorsal à a base da projeção anterior

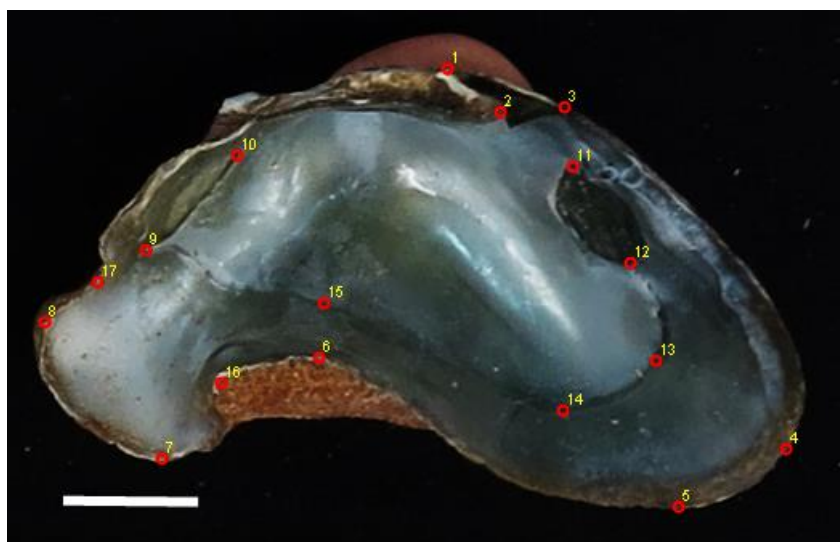


Figura 1: Esquema representando os dezessete pontos homólogos. 1- Umbo; 2-Vértice anterior da Inserção posterior do ligamento interno; 3-Vértice posterior da Inserção posterior do ligamento interno; 4- Máxima curvatura da parte posterior; 5- Máxima curvatura da parte mais ventral da região posterior; 6- Margem mediana da curvatura ventral; 7- Máxima curvatura da margem ventral da projeção anterior; 8- Máxima curvatura da margem dorsoanterior da projeção anterior; 9- Parte inferior da Cicatriz muscular anterior; 10- Parte superior da Cicatriz muscular anterior; 11- Parte superior da Cicatriz muscular posterior; 12- Parte inferior da Cicatriz muscular posterior; 13- Máxima curvatura da parte posterior da linha palial; 14- Margem ventral da curvatura da parte posterior da linha palial; 15- Ponto que perfaz uma linha com o ponto 6 perpendicular, ao eixo anteroposterior; 16- Ponto mais anterior da curvatura ventral e posterior a base da projeção anterior; 17- Ponto dorsal à a base da projeção anterior. Escala: 1 cm.

3.3 Morfometria Geométrica

Para os dados morfométricos foram utilizadas 60 valvas de espécimes da *Bartlettia stefanensis*, de duas bacias a Amazônica e do Paraná (Tabela 1). Foi utilizado tanto valvas esquerdas quanto valvas direitas, posteriormente normalizadas na análise de Procrustes no MorphoJ.

Tabela 1: Lista de espécies utilizadas para os dados morfométricos. Museu de Zoologia (MZSP), University of Florida (UF), Field Natural History Museum (FMNH), Museum of Comparative Zoology (MCZ), Smithsonian National History Museum (USNM), American Natural History Museum (AMNH), Delaware Museum of Natural History (DMNH), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (IRNSB), Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg (SMF). Mato Grosso (MT), Amazonas (AM), Paraguai (PAR), Equador (EQUA), Peru (PER).

Espécie	Museu	Nº do lote	Nº de espécie	Localidade
<i>Bartlettia stefanensis</i>	MZSP	70623	24	Rio Nioaque - MT
"	MZSP	102304	5	Rio Nioaque - MT
"	MZSP	103175	3	Rio Nioaque - MT
"	MZSP	26106	1	Rio Nioaque - MT
"	MZSP	26105	1	Rio Nioaque - MT
"	MZSP	45559	1	Rio Nioaque - MT
"	MCZ	256	1	Rio Amazonas - AM
"	MCZ	137132	1	Villarica- PAR
"	FMNH	173045	1	Rio Cusuimi- EQUA
"	UF	93164	1	Villarica- PAR
"	UF	045526	1	Villarica- PAR
"	DMNH	150021	1	Villarica- PAR
"	DMNH	173154	1	Rio Amazonas - AM
"	DMNH	48581	1	Rio Huallaga- PER
"	IRSNB	0430	2	Villarica- PAR

Tabela 1: Lista de espécies utilizadas para os dados morfométricos. Museu de Zoologia (MZSP), University of Florida (UF), Field Natural History Museum (FMNH), Museum of Comparative Zoology (MCZ), Smithsonian National History Museum (USNM), American Natural History Museum (AMNH), Delaware Museum of Natural History (DMNH), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (IRNSB), Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg (SMF). Mato Grosso (MT), Amazonas (AM), Paraguai (PAR), Equador (EQUA), Peru (PER). (Continuação)

"	SMF	12278	1	Rio Amazonas - AM
"	SMF	148111	2	Rio Huallaga- PER
"	USNM	427990	2	Villarica- PAR
"	USNM	467380	2	Villarica- PAR
"	USNM	86802	2	Rio Amazonas - AM
"	USNM	23503	2	Rio Amazonas - AM
"	USNM	112674	1	Rio Amazonas - AM
"	USNM	112674	1	Rio Amazonas - AM
"	AMNH	115785	2	Rio Nioaque - MT
Total			60	

Para realização das análises morfométrica foi utilizado o no programa MorphoJ versão 1.06d, para executar as preliminares do método de superposição e sobreposição de Procrustes (Generalized Procrustes Analysis- GPA), Componente Principais, Variação Canônica e teste de hipóteses de Modularidade. Utilizamos grupos de classificadores para testar se existe diferença entre as valvas em diferentes contextos: a) valva direita e esquerda; b) bacias hidrográficas em questão – bacia do Paraná e bacia Amazônica; c) localidade, nesse caso Villarica, Rio Nioaque, Rio San Alejandro, Rio Amazonas, Rio Huallaga e Rio Cusuimi.

Como *Bartlettia* apresenta uma intensa variação de expressão visual foi realizado um procedimento de extração dos marcos anatômicos que estejam relacionados a essa variação. Para tal, seguimos o seguinte protocolo: 1) Generalização por sobreposição de Procrustes; 2) retirada da informação alométrica pela regressão dos tamanhos dos centroides pelas coordenadas do Procrustes; 3) geração da matriz de covariância dos marcos anatômicos; 4) Análise de Componentes Principais a partir da matriz de covariância; 5) análise canônica entre os grupos de

classificação escolhidos para distinguir a distância morfométrica; 6) teste de modularidade; 7) separação dos módulos para novas análises; 8) Geração de nova matriz de covariância com os marcos anatômicos de cada novo módulo (e então temos as repetição dos passos 1 a 6).

3.4 Determinação do Morfoespaço

Com as coordenadas obtidas através do Procrustes para as valvas, foi feita análise de regressão o qual foram retirados qualquer efeito alométricos da análise, e posteriormente gerou uma matriz de covariância, que foi extraído a Análise de Componente Principal (PCA). A visualização de cada componente principal foi feita levando em conta cada grupo de classificação, a) valva direita e esquerda; b) bacias hidrográficas; c) localidade.

3.5 Análise Canônica Variância, Simetria e influência da distância.

A análise canônica tem como intuito examinar a separação entre grupos de interesse tomados como *a priori*. Os grupos *a priori* aqui são os mesmos dos grupos de classificadores: valvas, bacias e localidades. Utilizamos como indicador das mudanças das diferenças entre os grupos de classificação com o conjunto de marcos originais e nos módulos dois índices: a) distância de Mahalanobis (Dm), um estimador da distância morfométrica, que pode ser comparado entre tomadas das mesmas observações (MANLY, 1991); b) utilizamos os valores de Kolmogorov-Smirnov (Dks) para as diferenças entre os valores de cada grupo de classificação obtidos da frequência de cada variância canônica. Tomamos os valores de Dks emprestados do teste Kolmogorov-Smirnov por dois motivos: por ser não paramétrico, podendo ser generalizado para várias distribuições de variações canônicas e por apresentar valores que são sensíveis ao grau de diferença entre as distribuições (diferente de outros testes não paramétricos como o Mann-Whitney). Os testes e a visualização do Dks foi feita exportando os dados da matriz de covariância para o programa Past 3.25 (HAMMER *et al.*, 2001). Testamos se existe efeito de assimetria flutuante ou assimetria direcional (seguindo KLINGENBERG e MCINTYRE, 1998) usando Análise de Variância com Procrustes (Procrustes ANOVA), existente no MorphoJ, utilizando as variáveis “indivíduo”, “lado” (referente a valva, que responde pelo efeito de assimetria direcional) e a interação “lado” x “indivíduo” (referente a assimetria flutuante). Para

os dados de assimetria serão analisados se estão relacionados os efeitos ontogenéticos e/ou outros fatores.

3.6 Hipóteses de Modularidade

Em relação às deformações apresentadas nas observações do PCA, foi investigado possíveis módulos em *Bartlettia*. No entanto, não utilizamos o conceito de módulo exclusivamente direcionado por unidades ontogenéticas (presente em KLINGENBERG, 2009), mas também como provenientes de feitos de contingência filogenética (ou evolutiva; RAFF, 1996) e efeitos ambientais (LAUDER, 1995), formando então um cenário coerente do morfoespaço (EBLE, 2002). No programa MorphoJ os módulos são apresentados juntos a demais hipóteses de modularidade, medido pelo coeficiente RV de Escoufier foi analisado, com a finalidade de medir a força de associação entre dois conjuntos de variáveis. O valor do coeficiente RV varia entre zero e um. Quando a covariância entre os dois conjuntos de variáveis for próximo à zero, o qual indica que os conjuntos de variáveis não se correlacionam com o outro, porém aponta a presença de módulos. Se o coeficiente RV for igual ou próximo a um, a covariância dos dois conjuntos de variáveis é apenas um, e está se relacionando, logo não existem módulos presentes. Esses módulos estão associados a como as estruturas se desenvolvem ao longo da ontogenia, ou seja, se ocorrem de forma independente ou dependente. Como os testes de módulo são sempre par a par de subconjuntos propostos por nós, para cada módulo achado refizemos a procura por novos módulos, desde que o RV continue significativo.

A covariância entre os subconjuntos de marcos anatômicos foi testada estatisticamente no MorphoJ através de um teste de permutação aleatoriamente, deste modo era gerado ao acaso, para isso foi gerado o maior número de permutações possíveis e assim comparar com a covariação original dos dados (KLINGENBERG, 2009). Para o nível de significância do teste é gerado um valor da proporção a partir da comparação entre as medidas de covariação. (KLINGENBERG, 2009).

3.7 Anatomia

Para o estudo anatômico foram escolhidos quatro espécimes para anatomia, que pertenciam a região do Rio Nioaque do Mato Grosso do Sul. O material pertence à coleção malacológica do

Museu de Zoologia de São Paulo, São Paulo, Brasil (MZSP). Entre todos os materiais com partes moles bem preservadas da bacia Amazônica apenas uma amostra proveniente do Rio Juruá. (Tabela 3).

Tabela 3: Lista de espécies utilizadas para os dados anatômicos e histológicos.

Espécie	Museu	Nº do lote	Nº de espécimes	Localidade
<i>Bartlettia stefanensis</i>	MZSP	70539	3	Rio Nioaque
<i>Bartlettia stefanensis</i>	MZSP	99012	2	Rio Nioaque
<i>Bartlettia stefanensis</i>	MZSP	36609	1	Rio Juruá

Os espécimes vieram fixados da coleção em etanol a 70%, os procedimentos dos dados anatômicos utilizou-se a técnica de dissecação interna estabelecido por Simone (1994). As incisões foram feita sob a lupa estereomicroscopia (Laica EZ4), submersos a água em uma caixa de acrílico e fincados com alfinetes entomológicos, e com instrumentos para conduzir os cortes anatômicos e simultaneamente foi realizados desenhos a mão que posteriormente foram vetorizados no programa Corel Draw®. As fotos foram tratadas subsequente e conjuntamente foram tiradas fotografias com a câmera Sony Cyber-Shot e, em subsequente tratadas no Corel PhotoPaint® e Adobe Photoshop®.

Elaborou-se um protocolo de incisões mais detalhadas de parte ainda não descrita na literatura, como os sistemas nervoso, excretor e circulatório, e detalhes minuciosos do sistema digestivo. Iniciou-se os cortes na seguinte ordem: 1) retirada e isolamento do manto (de um dos lados); 2) amostras da borda do manto na região posterior, mediana e anterior são reservadas para estudos das papilas; 3) brânquia esquerda é excisada a partir da parte posterior, separando do corpo a partir do eixo ctenidial, procurando manter os seios circulatórios vizinhos ao pericárdio; 4) incisão pericardial, a partir da região anterior, seguindo o reto até o ventrículo, procurando manter as aurículas intactas em um primeiro momento, seguindo até a separação da aurícula do eixo ctenidial (e seio adjacente); 5) retirada do ventrículo porção do reto (com fixação em álcool) dentro da cavidade pericárdica e limpeza da membrana pericardial em volta do rim (até exposição total da massa renal); 6) desbridamento parcial de um dos lobos do rim para acessar região posterior e acessar nefróstoma; 7) incisão na região imediatamente abaixo do eixo ctenidial para acessar massa visceral, com camadas musculares sendo retiradas paralelo ao direcionamento das

fibras; 8) desbridamento das porções mais distais da glândula digestiva e gônadas, até revelar intestino, estômago, seios circulatórios e gânglio pedioso; 9) retirada do grupo de hemipalpos para acessar esôfago e gânglio cerebral; 10) incisão longitudinal do estômago a partir do esôfago; 11) abertura total posterior com retirada do gânglio ventral.

Padronizaram-se algumas abreviaturas para as estruturas anatômicas analisadas. Essas abreviaturas foram: **aa**: músculo adutor anterior, **an**: ânus, **ap**: músculo adutor posterior, **au**: aurícula, **bo**: boca, **ch**: chaneira, **cma**: cicatriz da musculatura adutora anterior, **cmp**: cicatriz muscular adutora posterior, **dd**: divertículo digestório, **de**: demibrânquia externa, **di**: demibrânquia interna, **es**: esôfago, **fl**: flap, **gc**: gânglio cerebral, **gp**: gânglio pedioso, **gv**: gânglio visceral, **he**: hemipalpo externo, **hi**: hemipalpo interno, **in**: intestino, **l**: ligamento, **le**: lamela externa, **lg**: língua, **li**: lamela interna, **ll**: linha lateral, **lm**: lamela média, **lp**: linha palial, **ma**: manto, **mc**: margem da concha, **mp**: musculatura palial, **mu**: músculo umbonal, **n**: nefróstoma, **nb**: nervos branquiais, **nd**: canal nefridial, **ne**: nefridióporo, **np**: nervos posteriores, **p**: palpo, **pc**: pericárdio, **pg**: projeção globosa, **pl**: papilas, **pp**: músculo protator do pé, **rap**: músculo retrator anterior do pé, **r**: rim, **ri**: rim inferior ; **rs**: rim superior **ot**: abertura do intestino, **st**: estômago, **tl**: inserção posterior do ligamento interno, **ty**: tiflossole; **u**: umbo, **ve**: ventrículo.

3.8 Histologia

Na histologia foi utilizado um espécime da coleção do MSZP, cujo lote foi nº 99012. Utilizamos um baixo numero de espécimes para a histologia, pois nosso objetivo com a técnica foi apenas para complementar os dados anatômicos, principalmente detalhar algumas estruturas menores e em forma geral. O procedimento iniciou a partir da fixação feita pelo MSZP em álcool 70%. Na sequência, foram processados seguindo a técnica histológica de rotina (BEHMER et al., 1976; RIEDER e SCHMIDT, 1987). O material foi incluído em parafina e seccionado em micrótomo rotativo na espessura de 5 µm. As lâminas histológicas elaboradas foram coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio óptico para observar as microestruturas de *B. stefanensis*. As lâminas histológicas foram examinadas sob luz microscópio (Modelo Leica DM750 Clinical Microscope) com uma ampliação de 4x, 10x, 40x ou 100x. A ampliação foi selecionada dependendo do tamanho do corte histológico: o microscópio tinha lentes objetivas de 4 x, 10 x, e 40 x, e foi equipado com uma câmera digital.

4. RESULTADOS

4.1 Morfometria Geométrica

4.1 Determinação do morfoespaço

Os três primeiros componentes principais explicam aproximadamente 52% de toda variação encontrada na análise (Figura 2). O primeiro componente principal explica por volta de (24,5%) está associado à angulação da parte anterior, que varia de reta à ventralmente inclinada em relação a o eixo antero-posterior, que está diretamente relacionado com a variação da curvatura ventral (Figura 2a-b). O segundo componente principal (13,9%), está relacionado com as variações da região anterior, principalmente na margem anteroventral, bem como conjuntamente a variação linha palial (Figura 2a-b). O terceiro componente principal (12,8%) é referente ao desenvolvimento da parte anterior, e à altura das valvas (Figura 2a-c). A linha palial aparece como principal mudança no quinto e sexto componente principal, mas com menos de 10% de variação explicativa. Um ponto interessante é que a cicatriz adutora anterior faz parte de todo contexto de variação em todos os componentes. O quarto, quinto e sexto componentes principais estão relacionados às formas da linha palial e da variação da cicatriz adutora posterior, correspondendo no total a 22% de toda variação. Uma diferenciação regional entre as grandes bacias hidrográficas pode ser visualizada na relação entre os dois primeiros componentes, onde temos uma tendência dos espécimes nos rios da Bacia do Paraná apresentarem a parte anterior menos desenvolvida (Figura 2). Não houve diferenças visíveis nos componentes principais entre as valvas e localidades.

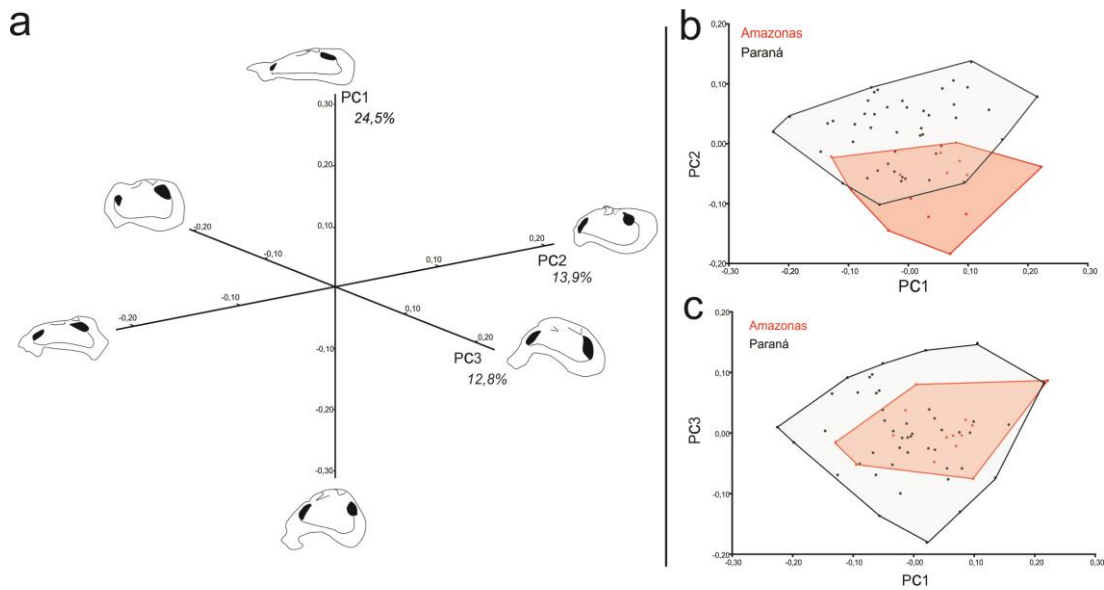


Figura 2: Principais componentes na análise (PC1, PC2 e PC3): a- principais eixos e variação de sua forma (baseada em indivíduos reais); b- morfoespaço ocupado (áreas hachuradas) representado pelos dois primeiros componentes principais; c – morfoespaço ocupado representado pelos componentes principais PC1 e PC3.

4.1.2 Modularidade morfológica

A hipótese de modularidade encontrada pelo programa MorphoJ, sem predefinição nossa, está relacionado aos marcos anatômicos 6, 15 e 16 como um módulo a parte dos demais marcos, ($RV = 0.19$ em 810 partições possíveis) (Figura 3b). No entanto, consideramos esse resultado um viés por dois motivos. Esse módulo é relacionado a curvatura ventral, não de fato ao efeito de distância entre os marcos. Por sua vez a curvatura ventral é resultado da variação da parte anterior, com demonstrado pelo primeiro componente principal (Figura 2a). O segundo motivo é presença de modularidade com poucos marcos anatômicos (que fica reduzido a três) . Dessa forma aceitamos a nossa hipótese de modularidade entre parte anterior e posterior, que aparece com valor de $RV=0,38$ em 4988 partições possíveis (Figura 3a). Nessa separação, o módulo anterior leva em conta a curvatura ventral, parte da região anteromediana da linha palial e a cicatriz adutora anterior (6, 7, 8, 9, 10, 15, 16 e 17).

Posteriormente realizamos uma segunda análise de hipóteses de modularidade com os módulos anterior e posterior a parte. O módulo anterior não apresentou novas hipóteses de modularidade (6 partições possíveis com frequências iguais de RV). O módulo posterior apresentou modularidade ($RV = 0,24$ em 10000 partições) uma hipótese de mínima covariância

que aceitamos como dois módulos: a) módulo umbo-posterior, relacionado aos marcos do umbo, ligamento e cicatriz da musculatura adutora posterior (marcos 1, 2, 3, 11 e 12); módulo posteroventral, relacionados aos marcos anatômicos da margem posterior e ventral (marcos 5, 4, 13 e 14). Não há hipótese de modularidade emerge de ambos módulos.

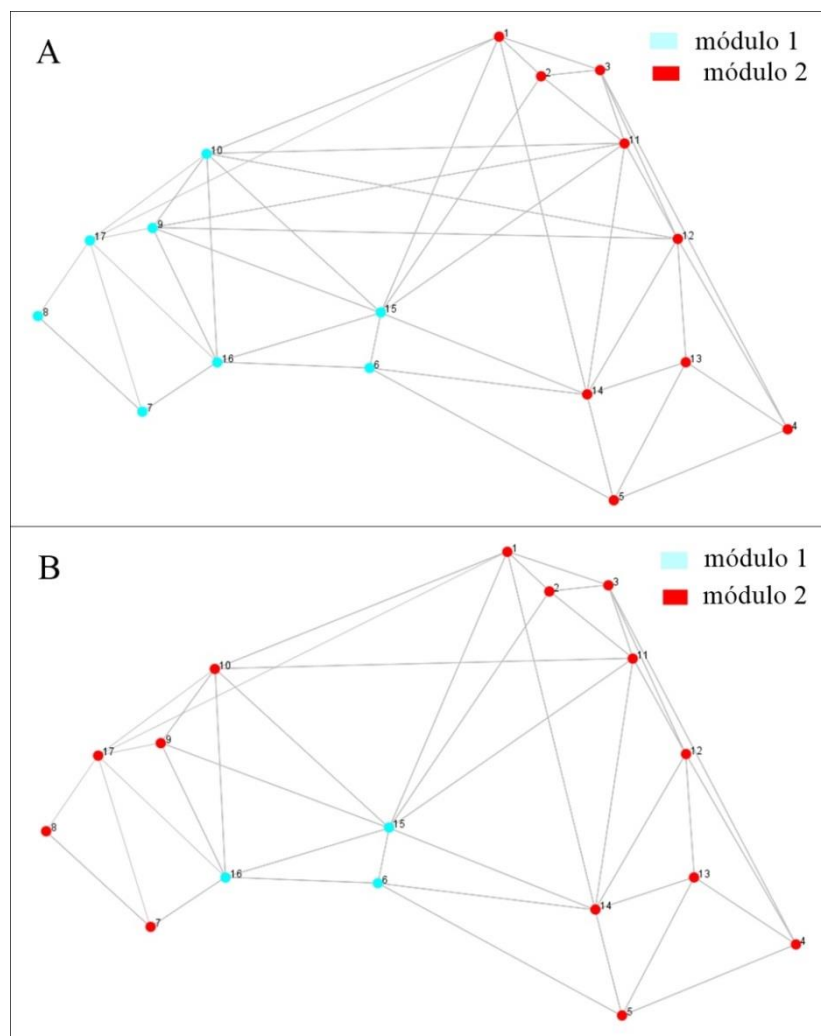


Figura 3: Diagramas de adjacência utilizados na construção das hipóteses de modularidade. a - primeira hipótese de modularidade com os módulo 1 representando a parte anterior e módulo 2 parte posterior. b - segunda hipótese de modularidade com módulo 1 representando a curvatura ventral da valva e módulo 2 toda a extensão da curvatura dorsal da valva.

4.1.3 Análise com os módulos

O módulo anterior apresenta potencial de plasticidade fenotípica, pois está relacionado à inserção das valvas no substrato, utilizamos apenas as hipóteses relacionadas a parte posterior, de fato com a parte anterior, e então excluí-la da análise.

A análise de componentes principais do módulo posterior nessa configuração nos revela um primeiro componente respondendo por 32,73%, sendo que a variação corresponde a curvatura, seguido do segundo componente com variação cerca de 17,43% que corresponde a variação da cicatriz muscular posterior e o terceiro componente principal com 14,82% da variação total, que corresponde uma variação geral no formato da margem posterior e a distância em relação ao umbo (Figura 4c). Há uma grande sobreposição entre localidade e valva, e parcial sobreposição levando em conta as bacias (Figura 4). A análise somente com o módulo umbo-posterior apresentou 6 componentes principais. O morfoespaço deste módulo comparado entre bacias, localidade e valva demonstra uma sobreposição dos espécimes da Bacia do Paraná sobre os espécimes amazônicos em todos os componentes principais (não mostrado). O módulo posteroventral apresentou apenas um componente principal possível (devido ao baixo número de marcos anatômicos).

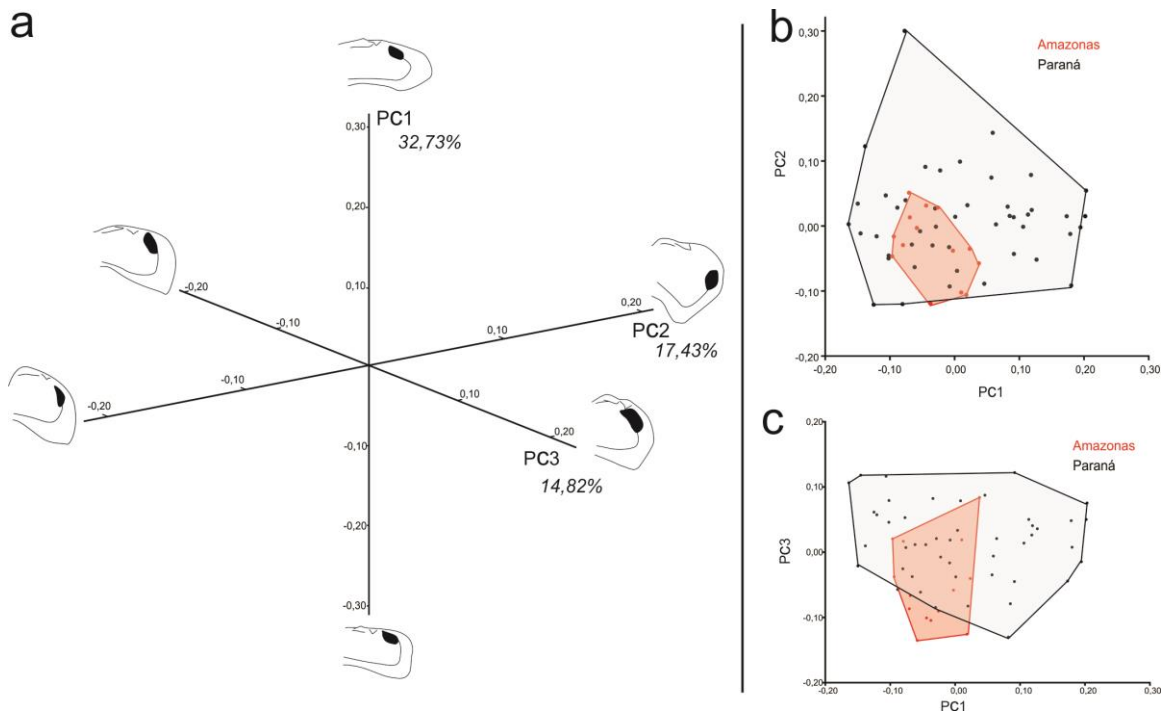


Figura 4: Principais componentes na análise (PC1, PC2 e PC3) levando em conta apenas o módulo posterior: a - principais eixos e variação de sua forma (baseada em indivíduos reais); b – morfoespaço ocupado representado pelos dois primeiros componentes principais; c – morfoespaço ocupado representado pelos componentes principais PC1 e PC3.

O módulo anterior apresentou 12 componentes principais, com o primeiro apresentando 31,6% de toda variação, representando a variação na angulação da parte anterior conjuntamente a posição do marco anatômico 10. O segundo componente principal (23,2%) está relacionado ao alongamento da região mais anterior conjuntamente a margem anterodorsal. O terceiro componente principal (14,1%) está representado pela variação da interação entre o marco anatômico 10 e a cicatriz muscular anterior. O morfoespaço ocupado nos três primeiros componentes principais apresenta-se totalmente sobreposto (não mostrado).

4.1.4 Variação canônica

A variação canônica por grupos demonstrou um decréscimo nas distâncias de Mahalanobis, bem como aumento na sobreposição das distribuições de scores canônicos (representado pelos valores de Kolmogorov Smirnov) tanto entre as bacias quanto entre as valvas para cada separação em módulos. Grande parte da variação canônica na diferença entre as valvas está na parte anterior comparado a distância de Mahalanobis e os maiores scores no módulo anterior (Figura 5), bem

como as maiores distâncias ($D_m = 2,8223$) enquanto a o módulo posterior apresenta menor diferença de scores e menor distância ($D_m = 0,854$). Já comparando as bacias (Figura 6), a diferença no número de scores da variação canônica é o mesmo entre os módulos posteriores e anteriores, com o módulo posterior apresentando maior distância ($D_m = 2,8223$) que o módulo anterior ($D_m = 1,9689$). Esses resultados mostram que não há regionalização das diferenças entre bacias e valvas que possam ser atribuídas a módulos.

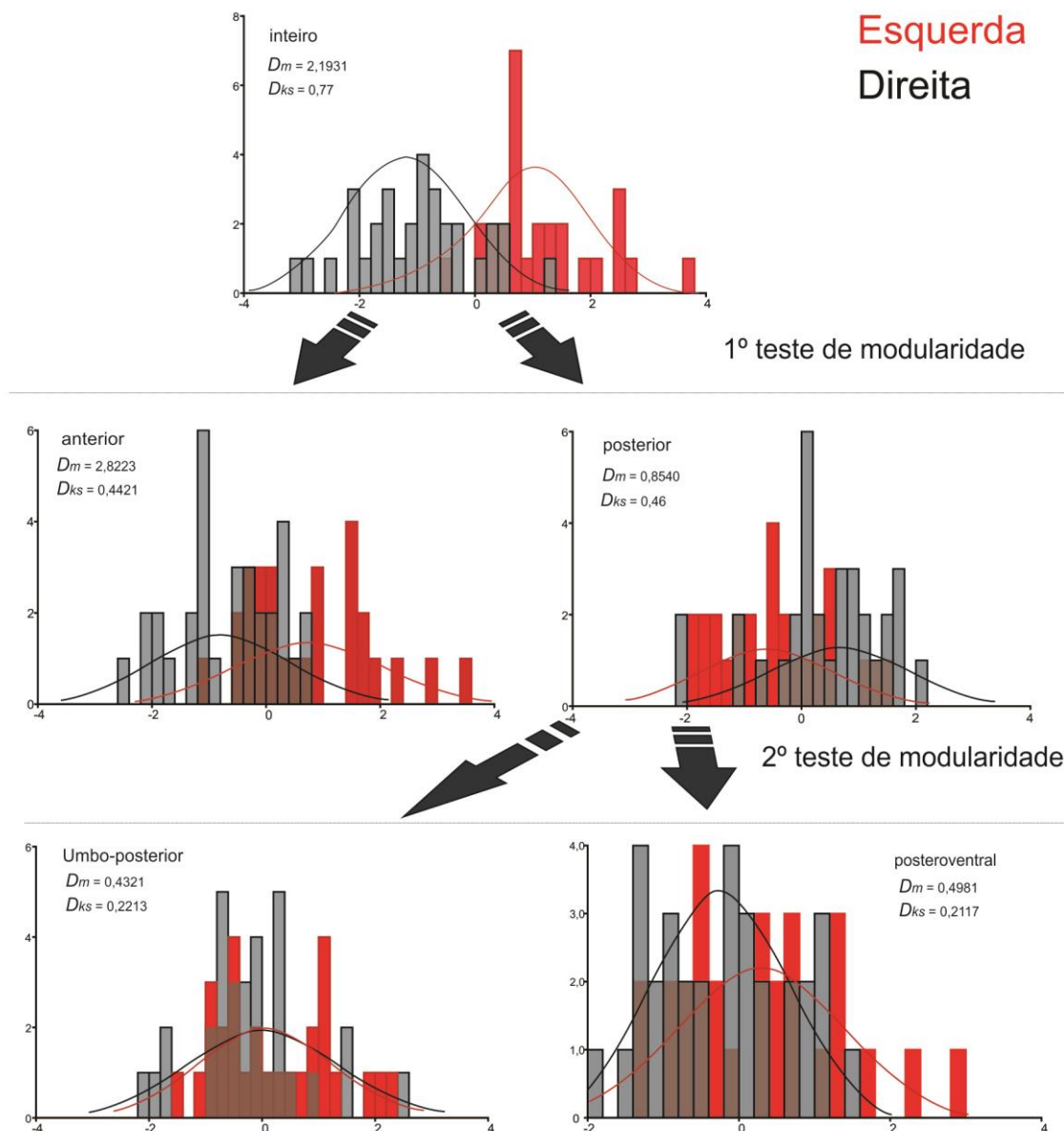


Figura 5: distribuição da frequência de *scores* da Análise de Variância Canônica entre as valvas no organismo inteiro e nos módulos resultantes. (D_m = distância de Mahalanobis; D_{ks} = valor de Kolmogorov-Smirnov entre as distribuições).

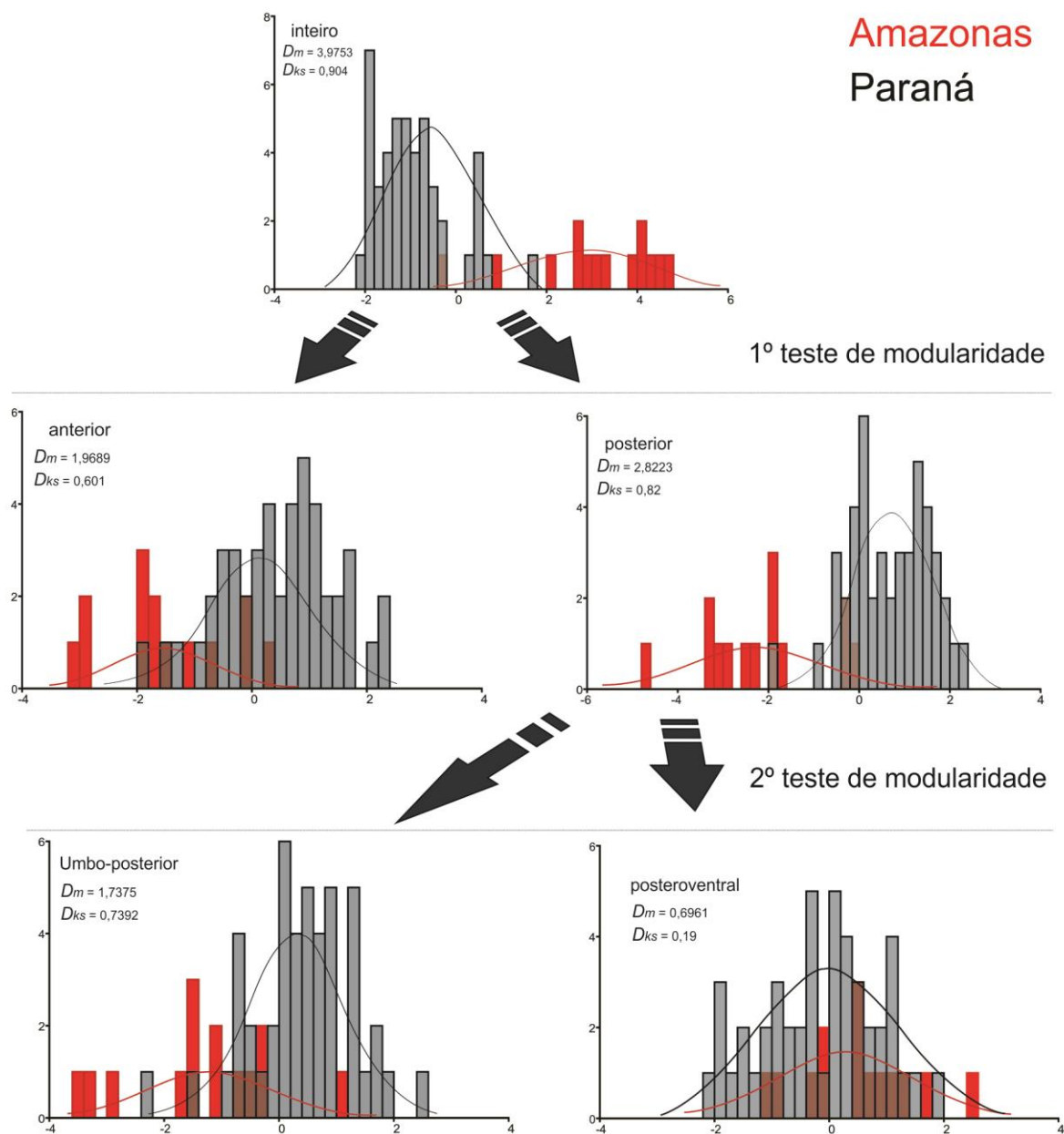


Figura 6: distribuição da frequência de *score*s da Análise de Variância Canônica entre as valvas no organismo inteiro e nos módulos resultantes.

4.1.5 Assimetria

Os resultados mostrados na Tabela 4 demonstram que há variação válida (média do erro não excede a média geral dos quadrados), onde se concentra nonas variações individuais, alta variação entre os lados. No entanto não há diferença significativa entre as variações do “lado”

(valvas) e da interação entre lado e indivíduo, denotando que não há uma clara distinção se há assimetria direcional e assimetria flutuante.

Tabela 4: Procrustes ANOVA para assimetria conduzida para indivíduos, lado (valvas) e interação indivíduos e lado: SQ = soma dos quadrados; MQ = Valor quadrático médio; gl = graus de liberdade.

Efeito	SQ	MQ	gl	P-valor
Individual	0,48393001	0,0020163751	240	<.0001
Lado	0,02683709	0,0008945697	30	0,0708
Lado X Indivíduo	0,14883486	0,0006201453	240	0,9998
Erro	0,65573611	0,0009107446	720	

4.1.6 Influência da distância

Foi feito a comparação da correlação das distâncias de Procrustes pela distância entre os pontos amostrais tanto entre o organismo inteiro, quanto por cada módulo. Em todos os casos a correlação entre os módulos e as distâncias apresentaram valores de r^2 próximo de zero, (com valor-p variando de 0,3 a 0,6 em todas as análises).

4.2 Descrição

A partir das dissecações de cinco exemplares, proveniente da coleção do MSZP, nº do Lote 70539, 99012 e 36609, foram feitos desenhos, dos lotes 70539 e 99012 do exemplar dissecado e fotografado. O lote nº 36609 da região do Rio Juruá – Amazônia foi apenas fotografado. Após o procedimento histológico com um espécime da coleção, lote nº 70539, obtivemos alguns resultados com a intensão de complementar a anatomia funcional. Alguns desses resultados nos permitiram a visualização de estruturas relacionadas aos sistemas circulatório, renopericardial, digestório e muscular.

Concha: Contorno geral (Figura 7a-f): apresentam valvas com duas regiões distintas: anterior, variando de tamanho e angulação em relação ao eixo anteroposterior da concha, muitas vezes adelgando-se anteriormente; região posterior, onde a margem posteroventral apresenta-se com expansão variável (em relação a linha palial). Curvatura na margem mediana ventral da borda

posteroventral, com tamanho variável, dependendo da angulação da parte anterior. Superfície externa (Figura 7a-b): cor do perióstraco variando entre amarronzado - passando pelo acinzentado - a verde musgo; friável ao longo das linhas de crescimento. Umbo (**u**) mediano à posterior, não enrolado, voltado dorsalmente, com altura variando de 1/6 a 1/7 da altura total da concha. Superfície interna (Figura 7g): perolada, iridescente. Cicatrizes musculares: cicatriz da musculatura adutora anterior (**cma**) alongada, com invaginação nas margens laterais internas do terço dorsal; razão altura/largura 1/3, com área com cerca de 1/8 da superfície interna. Cicatriz da musculatura adutora posterior (**cmp**) ovalada, com menor curvatura na margem dorsal; área levemente menor que a cicatriz adutora anterior. Cicatriz retratora anterior (**cra**), triangular, com margem ventral encostando-se à margem dorsal da cicatriz adutora anterior; área equivalente a 1/10 da área da cicatriz adutora anterior. Cicatriz da musculatura retratora posterior arredondada, encostando-se ao vértice da margem dorsoposterior cicatriz adutora posterior; área de 1/10 em relação a cicatriz adutora posterior. Cicatriz palial visível, distanciando cerca de 1/4 da margem da concha na região mediana; contorno mais retomemos variável que contorno da concha (não acompanhando a curvatura mediana ventral da concha). Cavidade umbonal rasa. Charneira (**ch**) presente entre parte posterior da cicatriz retratora anterior e margem anterior da projeção interna do ligamento sem dentição. Ligamento externo mesoanterior abaixo da região umbonal; ligamento externo posterior projetando-se internamente acima da região da musculatura adutora posterior; ninfa curva, acima da charneira, posterior ao umbo; a projeção interna do ligamento posterior triangular, penetrando até 1/6 da altura da concha.

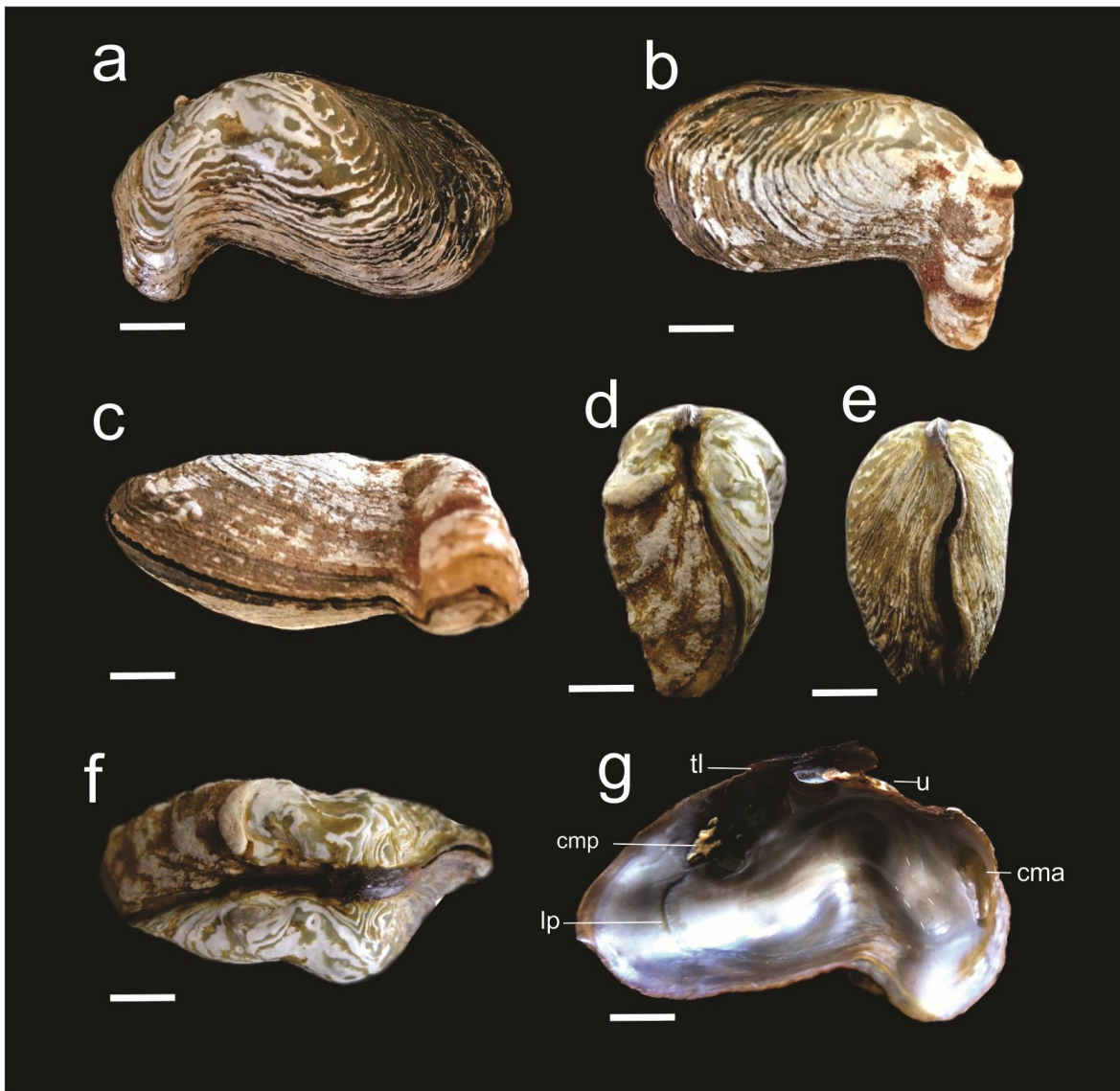


Figura 7: Concha de *Bartlettia stefanensis* do Rio Nioaque - MT. a- vista da superfície externa da valva esquerda. b- vista da superfície da valva direita. c- vista ventral da superfície externa. d- vista anterior da superfície externa. e- vista posterior da superfície externa. f- vista dorsal da superfície externa. g- vista da valva direita da superfície interna, cicatriz muscular adutora anterior (cma), cicatriz muscular adutora posterior (cmp), linha palial (lp), umbo (u) e inserção posterior do ligamento interno (tl). Escala: 1 cm.

Sistema Muscular Principal: Músculo adutor anterior (**aa**) alongado dorsoventralmente, com inserção com a mesma dimensão e com o formato delgado, posicionado anterior e dorsal à boca; área cerca de 1/6 do tamanho corporal, e até 1/2 do tamanho do músculo adutor posterior (Figura 8 d-e). Músculo adutor posterior (**ap**) arredondado, posterior aos sifões inalante e exalante, área cerca de 1/10 do tamanho total (Figura 8c). Musculatura palial (**mp**) ocorrendo em toda margem

do manto, originando-se da musculatura adutora anterior e inserindo na margem da lamela externa; ocupando cerca de 1/5 da altura corporal (Figura 9a-b). Lamela externa na parte mediana e posterior formando dobras bem perceptíveis (Figura 8i-j-m; Figura 9c). Sifões formados pela fusão das lamelas externas e medianas na porção final (Figura 8h-i-k-m). Músculo umbonal (**mu**), irregular como uma leve protuberância na porção dorsal, posicionado anterodorsalmente á musculatura adutora posterior (Figura8c), inserindo-se na cavidade umbonal. Par de músculos ctenidial transcorrendo ao longo do eixo ctenidial posterior ate a divisão sifonal, isolando a parte exalante da inalante.

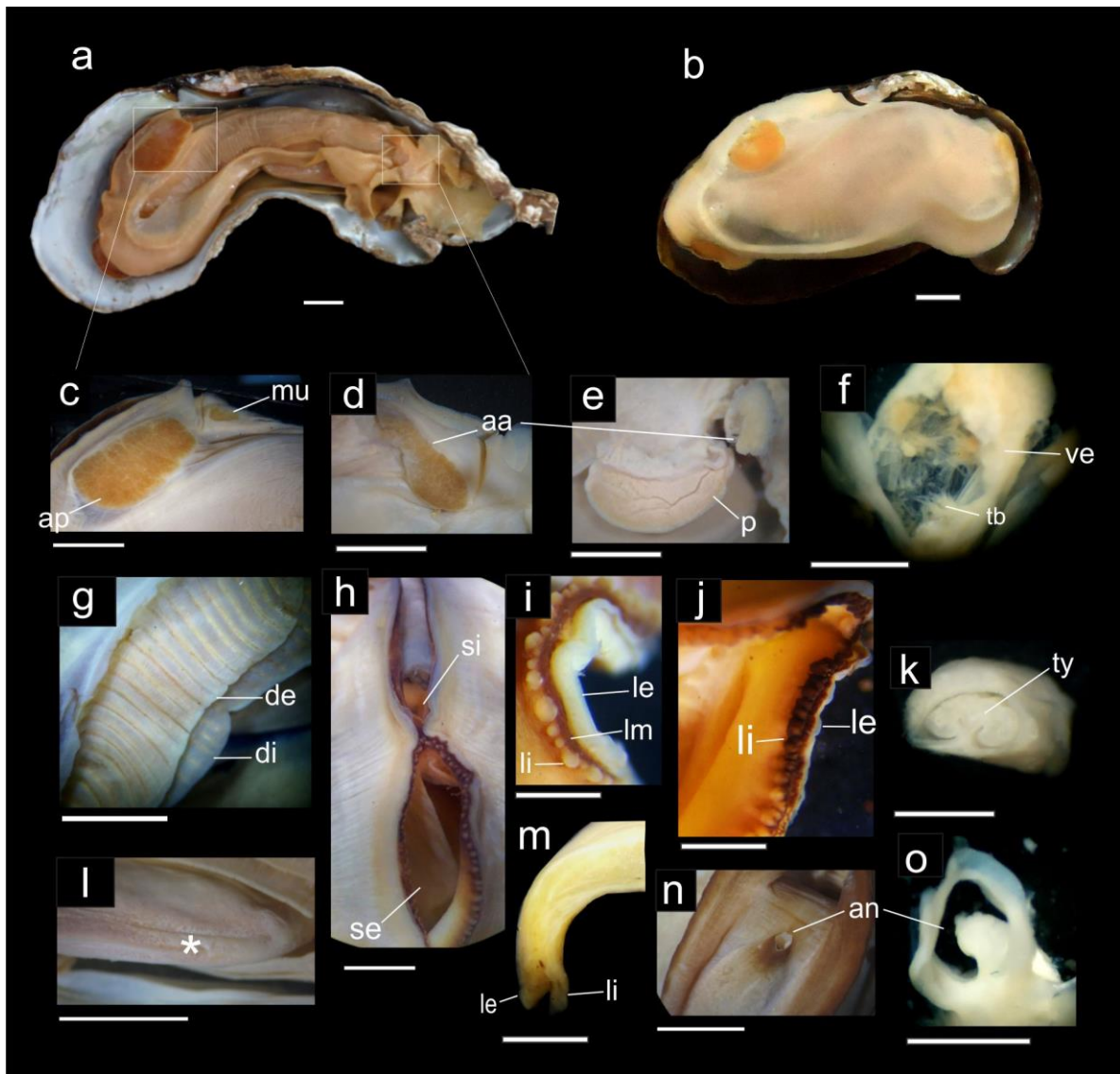


Figura 8: Fotografias da anatomia de *B. stefanensis*. a- *B. stefanensis* proveniente do Rio Juruá, Amazonas. b- *B. stefanensis* proveniente do Rio Nioaque, Mato grosso do Sul. c- músculo adutor posterior (ap), músculo umbonal. d- músculo adutor anterior (aa). e- músculo adutor anterior (aa), palpo (p). f- Coração em destaque o ventrículo (ve) e as trabéculas (tb). g- Brânquia em destaque, demibrânquia externa (de) e demibrânquia interna (di). h- Sifão inalante (si) e sifão exalante (se). i- Porção posterior, em evidência a lamela externa (le), lamela mediana (lm) e lamela interna (li) de *B. stefanensis* do Rio Juruá. j- Porção posterior, em destaque a lamela externa (le) e lamela interna (li) de *B. stefanensis* do Rio Nioaque. k- Reto em destaque, a tyflossole (ty). l- parte posterior da massa visceral, e parte final do pé, em destaque o suco pedioso/bissal (*). m- Lamela externa (le) e Lamela interna (li) da parte mediana da musculatura palial. n- Ânus (na) de *B. stefanensis* do Rio Juruá. o- Ânus de *B. stefanensis* do Rio Nioaque. Escala: 0,5 cm.

Manto: Manto translúcido, mais espesso nas margens e amarelado, preenche toda massa visceral, na margem ventral a musculatura palial mais encorpada, abrange cerca de 1/5 da área corporal. Lamela externa (**le**) levemente ondulada e com papilas na extremidade. Lamela media (**lm**)

contém as mesmas medidas que a lamela externa. Lamela interna (li) menor em relação às duas porções das lamelas anteriores (Figura 8i-j-m; figura 9c). Papilas inconspícuas.

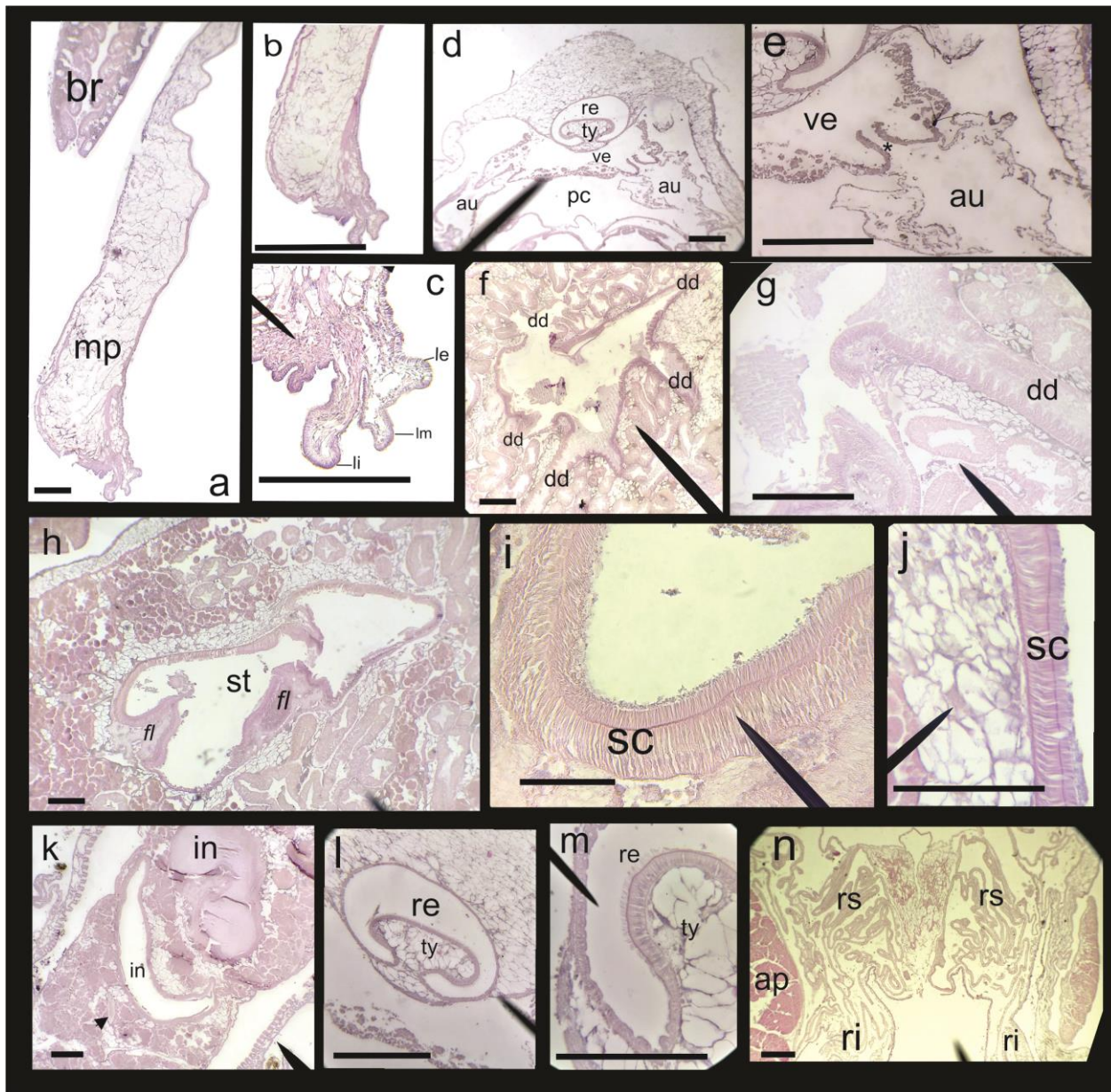


Figura 9: Histologia de *B. stefanensis* do Rio Nioaque – MT, lote nº 70539 em corte transversal. a- Em evidência, brânquia (br), músculo palial (mp). b- aumento das lamelas. c- Em destaque, lamela interna (li), lamela media (lm) e lamela externa (le). d- aurículas (au), pericárdio (pc), ventrículo (ve), trabéculas (tb) e tyflossole (ty). e- conexão entre a aurícula e ventrículo *. f- vista do estômago, revelando divertículos digestivos (dd). g- divertículo digestivo na parte posterior da parede do estômago. h- vista do estômago (st) e flaps (fl). i- cílios do estômago (sc). j- Parede do estômago, revelando cílios (sc). k- vista do intestino (in). l- porção final do intestino, revelando a tyflossole (ty). m- parte da musculatura adutora posterior (ap), pericárdio (pc), rim superior (rs) e rim inferior (ri). Escala 0,5 milímetros.

Cavidade Palial: Palpos ovais e curvos nas bordas, simétricos nas duas extremidades. Hemipalpo externo (**he**) e hemipalpo interno (**hi**) nas mesmas dimensões, comprimento equivale a 1/4 do tamanho das brânquias; hemipalpo externo com pregas irradiando na superfície. Margem posterior do hemipalpo interno inserida no canal alimentar da demibrânquia interna até 1/8 da largura do hemipalpo (Figura 8e). Brânquias com comprimento total equivalente a 2/3 do comprimento da concha e largura equivalente a 3/4 da altura da concha. Demibrânquia externa (**de**) é até 2/3 menor que a largura da demibrânquia interna (**di**) na porção anterior (Figura 8g), e a 1/4 na porção posterior; sulco alimentar (**sa**) presente na borda ventral da demibrânquia interna.

Sistema Circulatório e Renopericardial: Pericárdio (**pc**) abrangendo cerca de 2/3 do volume visceral, localizada ventralmente ao umbo e dorsalmente a massa visceral, alongada, com comprimento cerca de 3/4 do comprimento do renopericardial (Figura 9d; figura 10b). Aurículas (**au**), ventrículo (**ve**) e reto (**re**) ocupando cerca 2/3 do volume do pericárdio. Ventrículo com comprimento cerca de 3/4 do comprimento do reto; aurículas emergindo lateralmente na região mediana do ventrículo; interior do ventrículo com numerosas trabéculas, preenchidas com fibras musculares (Figura 8f; figura 9 d-e; figura 10a). Aurículas com comprimento máximo cerca de 3/4 do ventrículo, com comprimento anterior maior que posterior; projeção globosa na superfície externa posterior das aurículas (quando retraídas) (Figura 9 d-e; figura 10a). Rim (**r**) amarelado e esponjoso em corte transversal, com lobos posicionados posteriormente ao pericárdio e anterior à musculatura adutora posterior, com altura correspondente a 1/4 do tamanho total da massa visceral, com divisão em duas regiões, rim superior (**rs**) e rim inferior (**ri**) (Figura 9n) com par de lobos delgados estendendo-se anteriormente até nefróstoma percorrendo lateralmente entre o eixo ctenidial e o pericárdio (Figura 9n; figura 10a-b). Nefróstoma (**n**) posicionado na porção anteriordorsal a parede do rim, circulares e parcialmente fundidos (Figura 10b). Nefridióporo (**ne**) situado na parte anterior dorsal às brânquias, arredondado (Figura 10a).

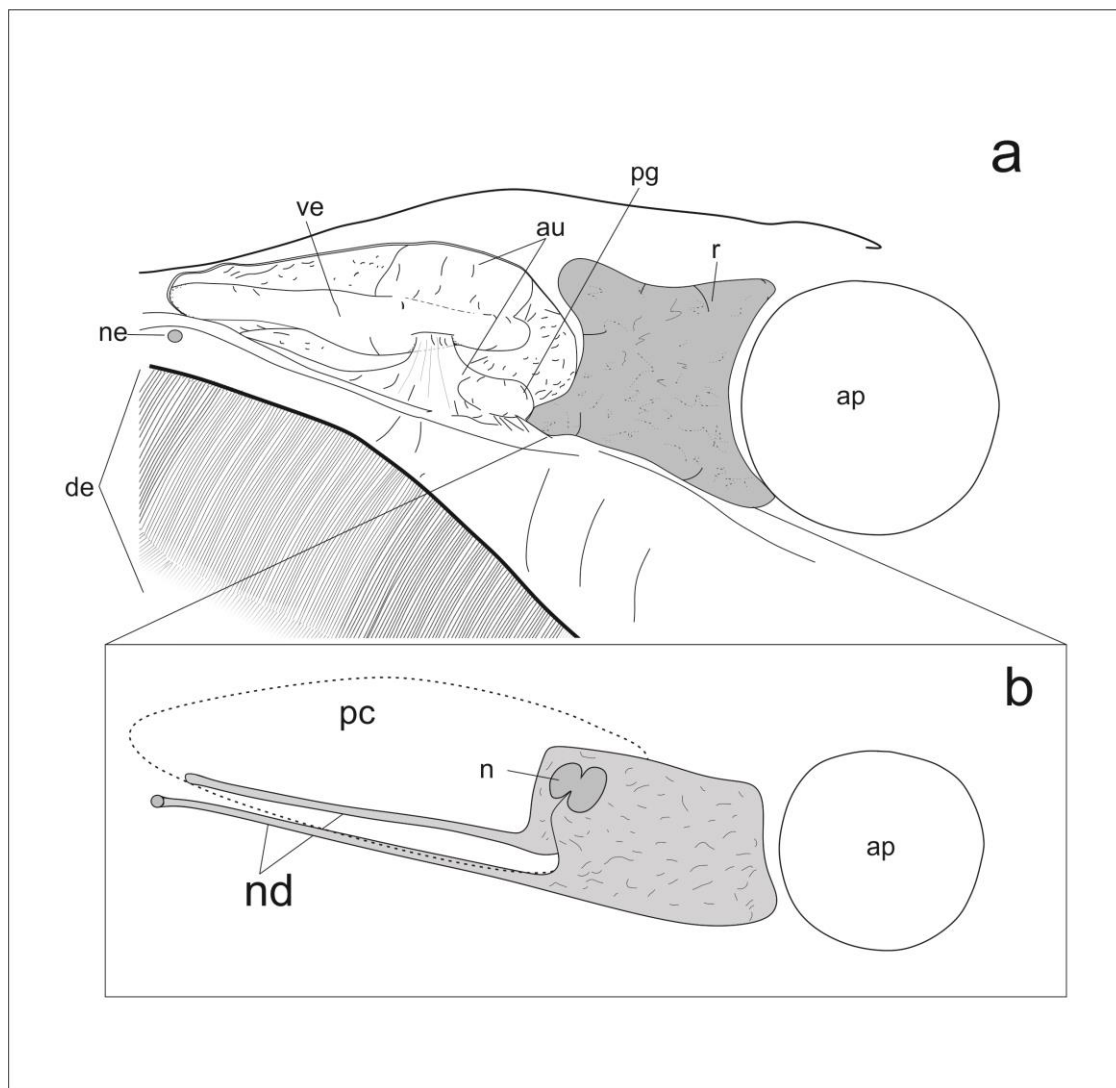


Figura 10: Desenho esquemático de *Bartlettia stefanensis* do Rio Noaque – MT, do sistema Circulatório e Renopericardial. a- Em evidência, aurículas (au), demibrânquia externa (de), músculo adutor posterior (ap), nefridióporo (ne), projeção globosa (pg) e rim (r). b- rim isolado em relação ao pericárdio; canal nefridial (nd), nefróstoma (n) e pericárdio (pc).

Sistema Digestivo: Boca (**bo**) alarga-se lateralmente, disposto posteriorventral a musculatura adutora anterior, estreitando no sentido do esôfago. Esôfago (**es**) em forma de funil, percorrendo paralela a musculatura adutora anterior com comprimento cerca de 1/4 do tamanho do estômago, parede interna pregueada; rima esofágica desenvolvendo-se na proximidade com estômago (Figura 11). Estômago (**st**) baloniforme posicionado anterodorsalmente a massa visceral, anteroventralmente ao pericárdio (Figura 9f-g-h-i-j; Figura 11). Dois *Flaps* estomacais (**fl**)

posteroventral, anterior a entrada intestinal e posterior à entrada do esôfago, com dimensões 1/4 em relação à superfície do estômago (Figura 9h; Figura 11). Divertículos digestivos espalhados por toda superfície do estômago dividindo o percurso do alimento; (**ddt**) posicionado próximo o esôfago, (**ddh1**) e (**ddh2**) posterior à ddt; divertículos (**dds1, 2,3**) dorsais a abertura do intestino, em uma reentrância da superfície estomacal; (**ddy1, 2**) posteriordorsal a parede do estomago; (**ddz**) e (**ddx**) lateral o orifício do intestino (Figura 9f-g; figura 11). Intestino (**in**) com cerca de 1/2 do diâmetro do saco do estilete próximo ao estômago e 1/3 do diâmetro do saco do estilete na região distal; oito voltas ocupando a massa visceral (sequência: meia volta dorsoanterior - meia volta dorsoposterior - meia volta ventroanterior, meia volta dorsoposterior - meia volta dorsoanterior - volta inteira dorsal; Figura 12c), seguindo até penetrar no pericárdio, denominado como reto atravessando anteriormente, o ventrículo e emergindo mesodorsalmente (Figura 9 l-m), percorrendo entre a margem posterior do manto e a musculatura adutora posterior, dorsalmente a massa renal e terminando no ânus. Não há diferenças histológicas entre o reto e o intestino (Figura 9k-l; figura 11a-c) Tiflossole (**ty**) em forma de “T”, ocupando cerca de 1/8 do diâmetro da luz intestinal na parte proximal, desaparecendo na parte distal do reto após a região renal (Figura 9l-m; figura 11 d). Ânus (**an**) posteriordorsal a musculatura adutora posterior, com papila localizada dorsal a abertura do ânus, cobrindo-a parcialmente (Figura 8n-o).

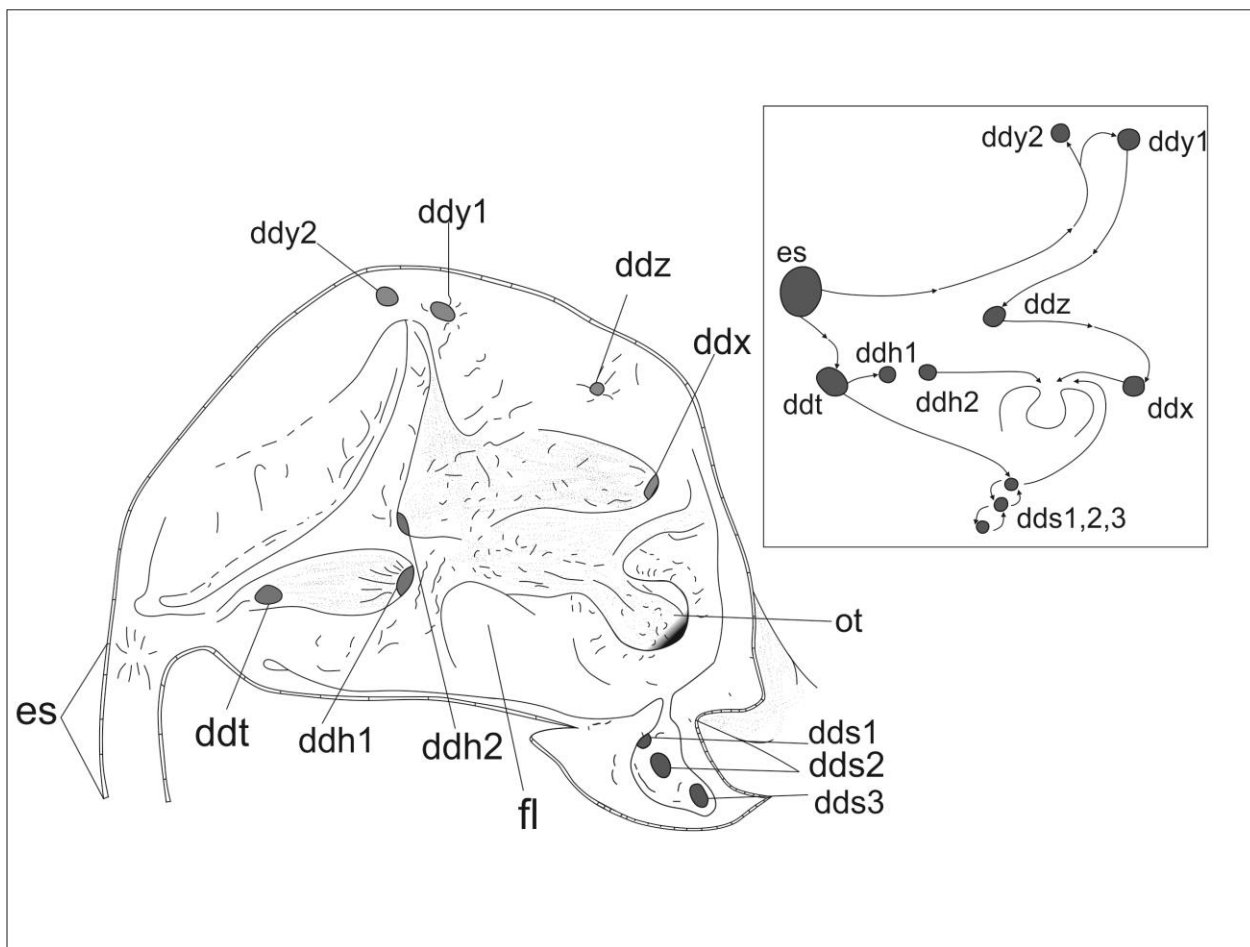


Figura 11:Desenho esquemático de *Bartlettia stefanensis* do Rio Nioaque- MT, do estômago com os divertículos digestivos (*ddt*; *ddh1*; *ddh2*; *ddy1*; *ddy2*; *ddz*; *ddx*; *dds1*; *dds2* e *dds3*), esôfago (*es*), *flaps* (*fl*) e abertura do intestino (*ot*). Em detalhe o provável caminho do fluxo alimentar.

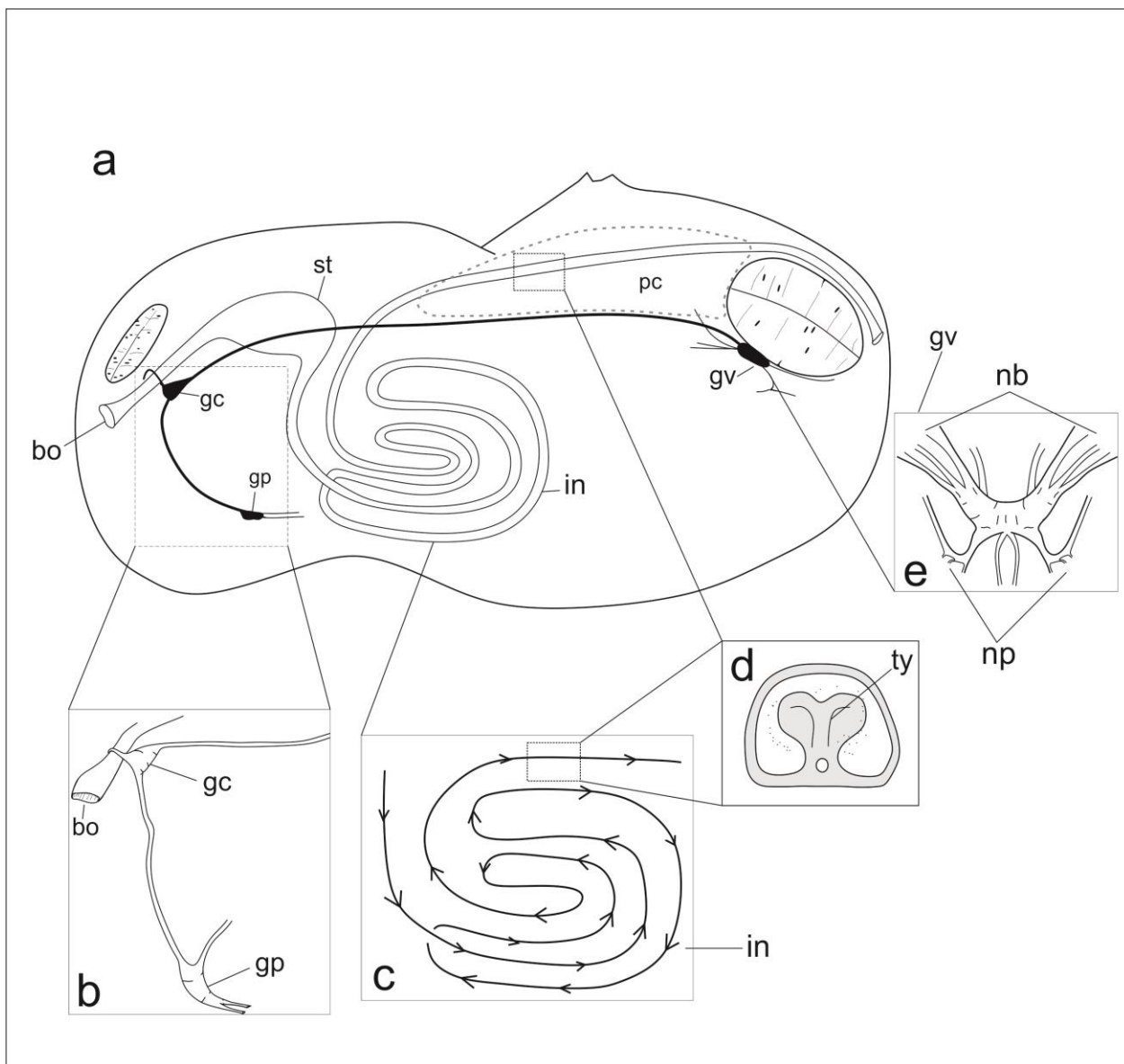


Figura 12: Desenho esquematizado de *B. stefanensis* do Rio Nioaque- MT. a- visão geral dos sistemas digestivos e nervoso. b- boca (bo), gânglio cerebral (gc), gânglio pedioso (gp). c- voltas esquematizadas do intestino (in). d- Tyflosssole (ty). e- gânglio visceral, vista ventral (gv), nervos branquiais (nb) e nervos posteriores (np).

Sistema Nervoso: Gânglio cerebral, esbranquiçado, elipsoide em corte sagital, localizado lateralmente ao esôfago e o músculo retrator anterior; comissura contornando o terço dorsal proximal do esôfago, abaixo do músculo retrator anterior. Nervo conectivo cerebral-visceral interligado uma extremidade a outra na porção dorsal da massa visceral (Figura 12a-b). Gânglio pedioso na porção ventral da massa visceral, posicionado mediano o pé, anterior a quarta volta do

intestino, levemente assimétrico à esquerda. Nervo-conectivo cerebral-pedioso na extremidade da massa visceral na porção anterior, inferior à boca (Figura 12a-b). Gânglio visceral dorsal á musculatura adutora posterior, esbranquiçado, configuração triangular em corte transversal; lobos anteriores esquerdo e direito não fusionado, mais espesso, que lobo posterior; lobo posterior achatado, totalmente fusionado extremidade ramificada, nervos somáticos branquiais com dois pares de nervos com três ramificações e os nervos posteriores, com dois pares de nervos e com três ramificações na extremidade (Figura 12a-e).

5. DISCUSSÃO

5.1 Morfometria Geométrica

Conforme apresentado em outros trabalhos a respeito da morfologia conquiológica o grupo Etheriidae é identificado como “incrustante”, uma característica marcante para a família (YONGE 1962). Entretanto, *Bartlettia* apresenta um pé reduzido associado ao modo de vida fixo pela parte anterior a sedimentos argilosos lateríticos (CARCELLES, 1940), por vezes adentrando totalmente o substrato (BURMEISTER, 1988). De acordo com Yonge (1962), a concha é irregular e isto aumenta conforme a idade, com adição de mais linhas de crescimento, sendo que este autor já identificava a parte anterior como a mais variável. Embora as conchas de outras famílias de unionóideos incrustantes apresentem uma grande variação (principalmente em relação ao alongamento da concha), não é tão intenso como observado em, *Bartlettia* (BURMEISTER, 1988).

Os três primeiros componentes principais estão associados ao modo de vida do organismo, sendo que o primeiro componente principal explica a variação na angulação da parte anterior, que está fortemente relacionado ao quando ele está internalizado no substrato (espécies “semi infaunais” apresentam alta angulação, segundo as representações de CARCELLES, 1940). O segundo e terceiro componentes estão possivelmente relacionados inserção da concha no substrato (levando em conta as representações de BURMEISTER, 1988). Quando analisamos os módulos, o os três componentes principais do módulo posterior está relacionado ao desenvolvimento do manto posterior nos três componentes principais (Figura 4), que pode estar relacionado também ao modo de vida – principalmente se for organismo totalmente internalizado no sedimento (BURMEISTER, 1988). Mesmo a posição e forma das cicatrizes também são altamente variáveis.

Existe uma relação da plasticidade fenotípica com fatores bióticos e abióticos associado as características espaciais (substrato) e fluviais (turbidez, corrente, pH, temperatura), como apresentado em *Obovaria jacksoniana* e *Villosa arkansasensis* (Unionoida: Unionidae), (INOUE *et al.*, 2013). Essa alta plasticidade fenotípica está possivelmente associada ao sucesso ecológico de *Bartlettia* (BURMEISTER, 1988; YONGE, 1962). A plasticidade fenotípica também está relacionada aos submódulos da região posterior como apresentado nos resultados, relacionados ao umbo-posterior

e posteroventral, o que mostrou módulos que indicam que a região posterior e umbo ocorrem de forma independente.

Os módulos apresentados nos resultados estão relacionados às interações com o substrato, mas não negamos que também esteja presentes explicações para integração com componentes de origem genética ou ontogenética, (KLINGENBERG, 2009). Há uma ausência de estudo com modularidade para bivalve, principalmente para avaliar as interações com o substrato. Em contrapartida, um estudo utilizando modularidade em concha de bivalve que avalia assimetria flutuante em módulos internos e externo de *Mytilus platensis*, que também resulta em diferentes traços de módulos independentes. Esses módulos estão associados à flexibilidade em meio das variáveis ambientais que podem afetar diferentes características anatômicas de várias maneiras. (TRIVELLINI *et al.*, 2018). De outra forma, para *Bartlettia* a instabilidade ontogenética explica menos que outros fatores a diferença entre a morfologia das valvas entre os organismos, ou seja, outros fatores estão explicando melhor a assimetria associada as valvas. Esses fatores não foram analisados, mas podem ser abióticos ou bióticos em relação ao ambiente.

Contudo, mesmo com a alta variabilidade das conchas, os resultados aqui apresentados pela morfometria em relação à integração e modularidade, nos mostram que não há justificativa, pelo menos em morfometria, para que haja separação de espécies, pois não há diferenças regionais ou relacionadas à distância entre as bacias.

5.2 Características anatômicas

O trabalho mais completo com anatomia de *Bartlettia stefanensis* até o momento é Mansur e Silva (1990). Aqui, apontamos um aprofundamento nas características que já foram descrita e novas descrições. Dentre estas novas descrições não citadas em outros trabalhos estão os sistemas nervoso, excretor e circulatório, e mais detalhado a concha, os sistemas digestório e muscular. Para a descrição feita por Mansur e Silva (1990) os espécimes são da região da Bacia do Amazonas, e foram utilizados doze espécimes, entretanto, nos utilizados cinco espécimes que são de ocorrência da Bacia do Paraná. E alguns dos sistemas não foram descritos, como os sistemas nervoso, circulatório e renal. Contudo, em comparação com o trabalho da Mansur e Silva (1990), apresentamos algumas diferenças que estão relacionadas às brânquias, no qual a demibrânquia externa é menor na porção anterior em relação à demibrânquia interna, porem na

extremidade posterior, após a metade da mesma, a demibrânquia externa cobre a demibrânquia interna, logo, apontamos que ao longo da extensão das brânquias a demibrânquia interna é maior e no quarto posterior as demibrânquias são equivalentes, e a interseção das brânquias com o manto é próximo à musculatura adutora posterior. O estômago contém duas bolsas cegas principais, sendo que com oito depressões ovais (entrada dos divertículos), o mesmo se repete neste trabalho, mas com dez entradas para os divertículos digestivos. Acreditamos que essa variação ser devido a vieses de corte anatômico e /ou histológico no trabalho original, pois muitos divertículos podem ser “escondidos” nos cortes ou não vistos dependendo de onde se observa (Marques, 2019; comunicação pessoal).

Como observado por YONGE (1962) e MANSUR e SILVA (1990), há uma presença de um pé reduzido em *B. stefanensis*, sendo que é a única espécie dentro de Etheriidae que este órgão permanece na fase adulta. A característica de possuir um pé significa que não ocorre de fato a incrustação, e que pode estar ativo ainda que durante a fase larval, uma evidência para uma aproximação a família Mycetopodidae.

O sifão é classificado como tipo III, onde as dobras internas do manto estão fundidas entre as aberturas inalante e exalante, é uma condição plesiomórfica entre os Etheriidae e Mycetopodidae (GRAF e CUMMINGS, 2006). No sifão exalante apresenta papilas que também são observadas para os mycetopodídeos *Anodontites trapesialis*, *Anodontites elongatus* (SIMONE, 1997), bem como no etheriídeo *Acostaea rivoli* (YONGE, 1978).

Em geral o estômago é similar a outros grupos de Unionoida, que pode ser classificado com tipo IV (PURCHON, 1958), como descrito em (MANSUR e SILVA, 1990). O tipo IV é caracterizado principalmente pela presença de um saco do estilete fusionado com a parte mais proximal do intestino associado a uma tiflossole menos aparente no estômago. Mas uma das características em unionóideos é a presença de inúmeras entradas de divertículos digestivos, uma característica plesiomórfica comum em alguns protobrânquios e pteriomorfios (PURCHON, 1987). A morfologia do estômago, como o padrão da entrada de divertículos é similar a outro mycetopodídeos, como por exemplo, em *Anodontites elongatus* (SIMONE, 1997), *A. trapeus* (HEBLING, 1976) e *Fossula fossiculifera* (AVELAR, 1994). O intestino é composto por três regiões como citado por Mansur e Silva (1990), que se assemelha ao mycetopodídeo *Fossula fossiculifera* (AVELAR, 1993) e ao etheriídeo *Acostaea rivoli* (YONGE, 1978).

Em geral a configuração do sistema circulatório está relacionada ao ventrículo de *Bartlettia* que envolve o reto e o excretor estendendo-se anterior até a musculatura adutora posterior até o nefridióporo situado na parte anterior, dorsal às brânquias. Uma característica nova é que há uma projeção globulosa na porção posterior nas aurículas bem características, relacionada à expansão das aurículas, não observado em outros unionóideos até então. Não podemos descartar que esta estrutura foi observada pela possibilidade das aurículas estarem contraídas no ato da fixação do organismo. Nos outros membros da família etheriídeos o ventrículo não envolve o reto, mas abaixo do reto, e apresenta ser menos desenvolvido como em *Etheria elliptica* (YONGE 1962) e em *Acostaea rivoli* (YONGE 1978). Em relação ao renopericardial, as estruturas do nefridióporo e nefróstoma, não foram observadas para *B. stefanensis* em MANSUR e SILVA (1990), sendo similares à família Mycetopodidae como em *Anodontites trapezeus*, *A. trapesialis* (HEBLING 1976), *A. elongatus* (SIMONE, 1997) e *Fossula fossiculifera* (AVELAR, 1993).

Para os unionóideos o sistema nervoso é formado por três pares de gânglios: cerebrais, pedais e viscerais, conectadas por um par de conectivos cerebrais-viscerais e um par de pedioso-cerebral. Estas mesmas características e a topologia podem ser observadas tanto para *B. stefanensis*, quanto para *Etheria elliptica* (YONGE 1962), quanto em *Anodontites trapezeus* e *Anodontites trapesialis* (HEBLING 1976). Entretanto, para *B. stefanensis* observa-se uma assimetria no posicionamento do gânglio pedioso, observados também para outros etheriídeos, e este aspecto pode estar relacionado ao modo de vida. É comum encontrar em bivalves com posicionamento oblíquo ou paralelo ao acamamento do substrato uma assimetria na disposição dos órgãos internos, já notados para telinídeos (HOLMES, 1961; MARQUES, 2012) e pteriomorfos (MARQUES E BARBIERI, 2015).

Atualmente a família é alvo de grandes confusões taxonômicas, principalmente o gênero *Bartlettia* que até o momento, há especulações que pertença a família Mycetopodídeos, mas sem grandes confirmações, pois ainda sim, não se conhece muito da ecologia e morfologia comparada a outros membros da família, alguns autores que argumentam esta hipótese de pertencer a Mycetopodidae (PEREIRA *et al.* 2013; MANSUR *et al.* 2012). Contudo, este argumento é totalmente válido, pois inicialmente a proposta da família Etheriidae é incluir todos os gêneros que possuem uma alta variabilidade no contorno das valvas, descartando as características

anatômicas. Por outro lado, no trabalho de Mansur e Silva (1990) utilizam espécimes provenientes da bacia amazônica, cujo, descrição de anatomia interna para *Bartlettia*, e faz comparação com *Anodontites tenebriosus* da família mycetopodídeos para distinguir ambas as espécies, logo conclui que há diferenciações entre ambas, mas também há características em comuns, mas delimita que *Bartlettia* pertença a família Etheriidae.

Destacamos outras características similares à família Mycetopodidae, como por exemplo, o padrão de voltas do intestino, a disposição das brânquias, palpo sistema circulatório e excretor. Essas similaridades podemos observar em outros trabalhos como em *Anodontites elongatus* (SIMONE, 1997), *A. trapesialis* e *Anodontites trapezeus* (HEBLING 1976), *Fossula fossiculifera* (AVELAR, 1993), *Diplodon rhombeus fontainianus* (AVELAR e CUNHA, 2009). *Bartlettia* é um táxon que tem sido posicionado dentro da família Etheriidae. Contudo, uma série de outros autores tem considerado a possibilidade de Etheriidae não ser monofilético. BONETTO (1997) propõe que os gêneros de ocorrência sul-americanas pertença à família Mycetopodidae, pois possui o mesmo tipo larval lasídio, característica comum para os Mycetopodidae. PAIN & WOODWARD (1961) e PARODIZ & BONETTO (1963) descreve que há uma semelhança na fase juvenil de *Bartlettia* e os demais mycetopodídeos. Atualmente, (GRAF e CUMMING, 2013) contestam o monofiletismo de Etheriidae, pelo posicionamento politômico dos táxons em diferentes modelos e conjuntos de dados, concluindo que possivelmente Etheriidae não é um grupo válido. No entanto, nos trabalhos de cunho filogenético *Bartlettia* não foi incluído para uma análise cladística.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho possibilitou-se um aprofundamento anatômico e morfológico de *B. stefanensis*, a fim de verificar se existem variações que justifiquem a separações das espécies nas duas grandes Bacias como do Paraná e Amazonas. Dessa forma os resultados apresentados, afirmam que as diferenças apontadas não suportam uma divisão entre as espécies, de modo proposto por Morretes. Portanto, confirmamos aqui que *B. gutmansi* é sinônimo júnior de *B. stefanensis*. Por outro lado, identificamos que, embora seja uma espécie de alta variabilidade no contorno da concha como a literatura já reportava, conseguimos identificar módulos de variações que devem responder de forma diferente a efeitos ambientais e, ainda não descartado, ontogenéticos. O efeito ambiental mais conhecido é o substrato e relação de encaixe da região da concha identificada como módulo anterior. Mas outros efeitos ambientais devem ser investigados. Aqui, apresentamos um estudo inédito para investigar a integração e modularidade morfologia em concha de *B. stefanensis*, que aclarasse o entendimento da taxonomia, e por este motivo pode ser base para investigar para outros grupos taxonômicos.

Para as características anatômicas algumas estruturas ainda não foram citadas na literatura para *B. stefanensis*, como por exemplo, a) o sistema nervoso e presença de uma assimetria de posicionamento no gânglio pedioso; b) sistema circulatório – com a presença de uma projeção globulosa nas aurículas; c) estruturas renopericardial, como o nefridióporo e nefróstoma. Além destas características não descritas, o que encontramos aqui é que muitas características dadas como típicas de Etheriidae (como levantados por Yonge, 1962) pode ser plesiomorfias em relação à Mycetopodidae. Por outro lado, características dadas como de Mycetopodidae podem não ser exclusivas a este grupo e sim a grupos mais inclusivos - questões estas que podem ser respondidas com um estudo comparativo sob um prisma filogenético mais completo (i.e., em um contexto de evidência total) poderia iluminar a validade taxonômica de Etheriidae.

REFERÊNCIA

ADAMS, H., Descriptions of six new species of shells, and a note on *Opisthostoma de-Crespignii*. **Proceedings of the Zoological Society of London** : 445-447, 1866.

AMARAL, A. C. Z.; RIBEIRO, C. V.; MANSUR, M. C. D.; *et al.* A situação de ameaça dos invertebrados aquáticos do Brasil. In: **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**[S.l: s.n.], 2008.

ANDREW M.E. E STEPHEN A. B. "Histological Atlas of Freshwater Mussels (Bivalvia, Unionidae): *Villosa nebulosa* (Ambleminae: Lampsilini), *Fusconaia cerina* (Ambleminae: Pleurobemini) and *Strophitus connasaugaensis* (Unioninae: Anodontini)," **Malacologia** 57(1), 99-239, (1 June 2014). <https://doi.org/10.4002/040.057.0104>

AVELAR, W. E. P. Functional anatomy of *Fossula fossiculifera* (D'Orbigny, 1843) (Bivalvia: Mycetopodidae). **American Malacological Bulletin**. 1993. 10: 129-138, 1994.

BEHMER, O.A., TOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: EDART – São Paulo Livraria Editora, Editora da Universidade de São Paulo. 241p., 1976.

BONETTO, A.A. Las “ostras de agua dulce” (Muteloidea: Mutelidae). Su Taxonomia y distribución geográfica en el conjunto de las naiades del mundo. **Biociências**. 5(1):113-142, 1997.

BONETTO, A.A.; La superfamilia Unionacea en la cuenca Amazonica. Atlas do Simpósio sobre a biota Amazônica, 3 (Limnologia): 63-82. 1967.

BOGAN A. E. & ROE K. J., Freshwater bivalve (Unioniformes) diversity, systematics, and evolution: status and future directions. **Journal of North American Benthological Society** 27(2):349-369, 2008.

BOGAN, A. E., & HOEH, W. R. On becoming cemented: evolutionary relationships among the genera in the freshwater bivalve family Etheriidae (Bivalvia: Unionoida). **Geological Society, London, Special Publications**. 177(1), 159-168, 2000.

CALLIL, C. T. MANSUR, M. C. D., Ultrastructural analysis of the shells of *Anodontites trapesialis* (Laemarch) and *Anodontites elongatus* (Swainson) (Mollusca, Bivalvia, Etheroidea) from the Mato Grosso Pantanal Region, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba - PR, v. 22, n.3, p. 724-734, 2005.

CALLIL, C. T. e MANSUR, M C. D.. Gametogênese e dinâmica da reprodução de *Anodontites trapesialis* (Lamarck) (Unionoida, Mycetopodidae) no lago Baía do Poço, planície de inundação do rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Rev. Bras. Zool.** [online]. 2007, vol.24, n.3, pp.825-840. ISSN 0101-8175. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752007000300033>.

CARCELLES, A.; *Bartlettia stefanensis* (Moricand) en el Paraguay. **Notes mus. la Plata**, 5, Zool. No. 40. 1940.

EBLE, G. J., Developmental morphospaces and evolution. Pp. 35-65 in J. P. Crutchfield and P. Schuster (eds.): *Evolutionary Dynamics -- Exploring the Interplay of Selection, Neutrality, Accident, and Function*. Oxford, Oxford University Pres, 2002a.

FORNEL, R. ; CORDEIRO-ESTRELA, P. 2012. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. In: Jorge R. Marinho; Luiz U. Hepp; Rodrigo Fornel. (Org.). *Temas em Biologia: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim*. 1ed.Erechim: EDIFAPES, p. 101-120.

GARDINER, LAUREN M., JULIE A. HAWKINS, AND DAVID L. ROBERTS. "Species delimitation in *Vanda* sect. *Cristatae* Lindl.(Orchidaceae): a morphometric approach." **Selbyana**, 347-353, 2005.

GRAF, D. L., Patterns of Freshwater Bivalve Global Diversity and the State of Phylogenetic Studies on the Unionoida, Sphaeriidae, and Cyrenidae*. **American Malacological Bulletin**, 31(1), 135–153, 2013.

GRAF, D. L. & K. S. CUMMINGS, 2013. The Mussel Project Website [Available at <http://mussel-project.uwsp.edu/>]. Acesso 21 Agosto 2019.

GRAF D. L. e CUMMINGS K. S., Review of the systematics and global diversity of freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida). **J Mollus Stud.** 73: 291-314, 2007.

GRAF, D.L. e CUMMINGS K.S., Palaeoheterodont diversity (Mollusca: Trigonioidea + Unionoidea): what we know and what we wish we knew about freshwater mussel evolution. **Zoological Journal of the Linnean Society** 148: 343-394, 2006.

GRAF DL. The Etherioidea revisited: a phylogenetic analysis of hyriid relationships (Mollusca: Bivalvia: Paleoheterodonta: Unionoidea). *Occasional Papers of the University of Michigan Museum of Zoology* 729: 1–21, 2000a.

HAMMER, O., HARPER D.A.T. e RYAN P.D., PAST: Paleontological Statistic software package for education and data analysis. **Paleontologia Eletrônica** 4 (1): 1-9, 2001.

HEBLING, N. J., The functional morphology of *Anodontites trapezeus* (Spix) and *Anodontites trapezialis* (Lamarck) (Bivalvia, Mycetopodidae). **Boletim de Zoologia, São Paulo**, vol. 1, p. 265-298, 1976.

HOEH, W. R., BOGAN, A. E., HEARD, W. H., e CHAPMAN, E. G., Palaeoheterodont Phylogeny, Character Evolution, Diversity and Phylogenetic Classification: A Reflection on Methods of Analysis. **Malacology**, 51(2), 307–317. 2009.

HOLMES N.A., Notes on the mode of life of the Tellinidae (Lamellibranchia). **Journal of marine Biological Association UK**, 41(3): 699–703. 1961.

INOUE, K., HAYES, D. M., HARRIS, J. L., & CHRISTIAN, A. D., Phylogenetic and morphometric analyses reveal ecophenotypic plasticity in freshwater mussels *Obovaria jacksoniana* and *Villosa arkansasensis* (Bivalvia: Unionidae). **Ecology and Evolution**, 3(8), 2670–2683, 2013. doi:10.1002/ece3.649

KLINGENBERG, C. P. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. **Evolution & Development**, v. 11, n. 4, p. 405-421, 2009.

KLINGENBERG, C.P. e MCINTYRE, G.S., Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. **Evolution** 52: 1363–1375, 1998.

LAUDER, G. V., On the inference of function from structure. Pp. 1-18 in J. J. Thomason, ed., Functional Morphology in Vertebrate Paleontology. **Cambridge, Cambridge University Press**, 1995.

LECOCQ, THOMAS, *et al.* "Methods for species delimitation in bumblebees (Hymenoptera, Apidae, Bombus): towards an integrative approach." **Zoologica scripta** 44.3 281-297, 2015.

LOPES-LIMA, M., E. FROUFE, V.T. DO, M. GHAMIZI, K.E. MOCK *et al.* , Phylogeny of the most species-rich freshwater bivalve family (Bivalvia: Unionida: Unionidae): Defining modern subfamilies and tribes. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 106: 174-191, 2017.

MANLY B. E. J., Randomization and Monte Carlo methods in biology. Chapman and Hall, London. 1991.

MANSUR, M.C.D.; I.L. VEITENHEIMER-MENDES & J.E.M. ALMEIDA-CAON. Mollusca, Bivalvia de um trecho do curso inferior do rio Jacuí, RS, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre** (67): 87-108. 1988.

MANSUR, M.C.D.; Lista dos Moluscos bivalves das famílias Hyriidae e Mycetopodidae para o estado do Rio Grande do Sul. **Iheringia, Série Zoologia**, 39: 33-95. 1970.

MANSUR M.C.D & DA SILVA M.D.G.O.; Morfologia e microanatomia comparada de *Bartlettia stefanensis* (Moricand, 1856) e *Anodontites tenebricosus* (Lea, 1834) (Bivalvia, Unionoidea, Muteloidea). **Amazoniana** 11(2): 147-166. 1990.

MARQUES, R. C., e BARBIERI, E., Anatomical differences among specimens of *Pinctada imbricata* Röding, 1798 from different South American localities. **Boletim do Instituto de Pesca**, 4, 751-761. 2015.

MARQUES, R. C., Anatomia e filogenia do gênero *Eurytellina* (Tellinidae: Tellinoidea). (Tese de Doutorado). **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**, 280pp. 2012.

MILLARD, V., Classification of Mollusca: a classification of world wide Mollusca (3): 915-1447, 2001.

MIKKELSEN, P. M. & R. BIELER, Biology and comparative anatomy of *Divariscintilla yoyo* and *D. troglodytes*, two new species of Galeommatidae (Bivalvia) from stomatopod burrows in eastern Florida. **Malacologia**, 31 (1): 1-21, 1989.

MODELL, H., Das natürliche System der Najaden. **Archiv für Molluskenkunde** 74(5/6): 161-191, 1942.

MORICAND, J.. Description de quelques nouvelles espèces de Coquilles du Pérou. **Journal de Conchyliologie** 5: 175-181. 1856.

MORRETES, F.L.d., Ensaio de catálogo dos moluscos do Brasil. **Arquivos do Museu Paranaense Curitiba** 7: 5-216, 1949.

MORRETES, F.L.d.; “*Rochanaia gutmansi*”, nov. gen. n. sp., novo lamelibranquio do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico** 12(5): 75-80. 1941.

NOGUEIRA M, A. A. (2013). Ocorrência e caracterização histológica de marsúpios de *Diplodon expansus* (Küster, 1856) (Mollusca, Bivalve, Hyriidae) no rio Piraquara, Paraná, Brasil. **Biotemas**, 26(1). doi:10.5007/2175-7925.2013v26n1p97

ORTMANN, A. E., The anatomy of certain mussels from the Upper Tennessee. **The Nautilus** 34: 81–91, 1921.

PAIN, T. e WOODWARD F.R., A revision of the freshwater mussels of the family Etheriidae. **Journal of Conchology** 25(1): 2-8, 1961.

PARODIZ, J.J. e BONETTO A.A., Taxonomy and zoogeographic relationships of the South American naiades (Pelecypoda: Unionacea and Mutelacea). **Malacologia** 1(2): 179-213, 1963.

PURCHON, R. D., The stomach in the Bivalvia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 316(1177), 183-276, 1987.

PURCHON, RD., The stomach in the Eulamellibranchia: stomach type IV. **Proceedings of the Zoological Society of London**, vol. 131, p. 487-52, 1958.

PEREIRA D., DREHER MANSUR M.C., DUARTE L.D.S., SCHRAMM DE OLIVEIRA A, MANSUR PIMPÃO D, TASSO CALLIL C, ET AL. Bivalve distribution in hydrographic regions in South America: historical overview and conservation. **Hydrobiologia**. 735: 15–44, 2014.

PERES-NETO, P.R. 1995. Introdução a análises morfométricas. p. 57-89. In: P.R. Peres-Neto; J.L. Valentin & F.A.S. Fernandez (Eds.). **Tópicos em tratamentos de dados biológicos**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 161 p.

RAFF, R. A., The Shape of Life. Genes, Development, and the Evolution of Animal Form. 1996.

RIEDER N. & SCHMIDT K., Morphologische Arbeitsmethoden in der Biologie. Verlagsgesellschaft mbH, **Germany**, 1987.

SILVEIRA, B. E. ; MOURA, M. O. ; VAIRO, K. P. ; de CARVALHO, C. J. B. . Morfometria geométrica comparativa de asas de *Oxysarcodexia paulistanensis* (Mattos) e *Oxysarcodexia riograndensis* Lopes (Diptera, Sarcophagidae). In: **XXVIII Congresso Brasileiro de Zoologia**, 2010, Belém - PA. Resumos do XXVIII Congresso Brasileiro de Zoologia, 201

SIMONE, L.R.L.; Land and Freshwater Molluscs of Brazil. **São Paulo, EGB/Fapesp**, 390p., il. 2006.

SIMONE, L.R.L., Anatomical characters and systematics of *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) from South America (Mollusca, Bivalvia, Unionoida, Muteloidea). Stud. **Neotrop. Fauna Environ.** 29 (3): 169-185, 1994.

SIMONE, L.R.L, Anatomy and Systematics of *Anodontites elongatus* (Swainson) From Amazon and Paraná Basins, Brazil (Mollusca, Bivalvia, Unionoida, Mycetopodidae), **Revta bras. Zool.** 14 (4): 877 - 888, 1997.

TRIVELLINI, MM, VAN DER MOLEN, S. e MÁRQUEZ, F. **Hydrobiologia** (2018) 822: 189. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3679-8>)

VALDIVIA, K., VIVAR R., HUAMAN P., . ZALDIVAR R. Lista taxonómica de las especies de bivalvos dulceacuícolas en el Perú. **Biotempo** 2: 105-106, 1995.

VON BURMEISTER E.G.; Beobachtungen zur Lebensweise von *Bartlettia stefanensis* (Moricand, 1856) am Rio Lullapichis (Peru). **Spixiana** 11(1): 27-36. 1988.

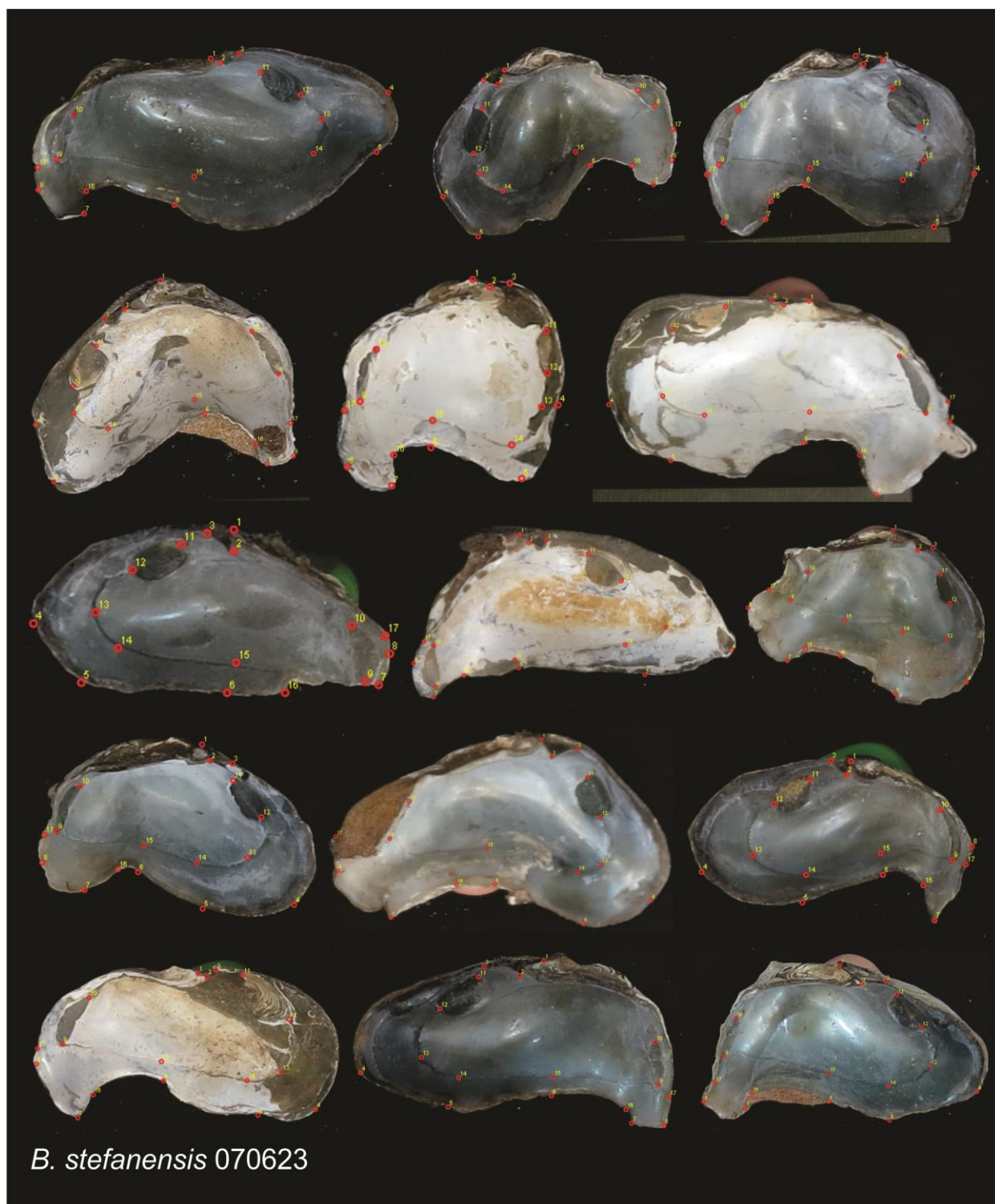
YONGE C.M.; On *Etheria elliptica* LAM. and the Course of Evolution, Including Assumption of Monomyarianism, in the Family Etheriidae (Bivalvia: Unionacea). **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences** 244(715): 423-458. 1962.

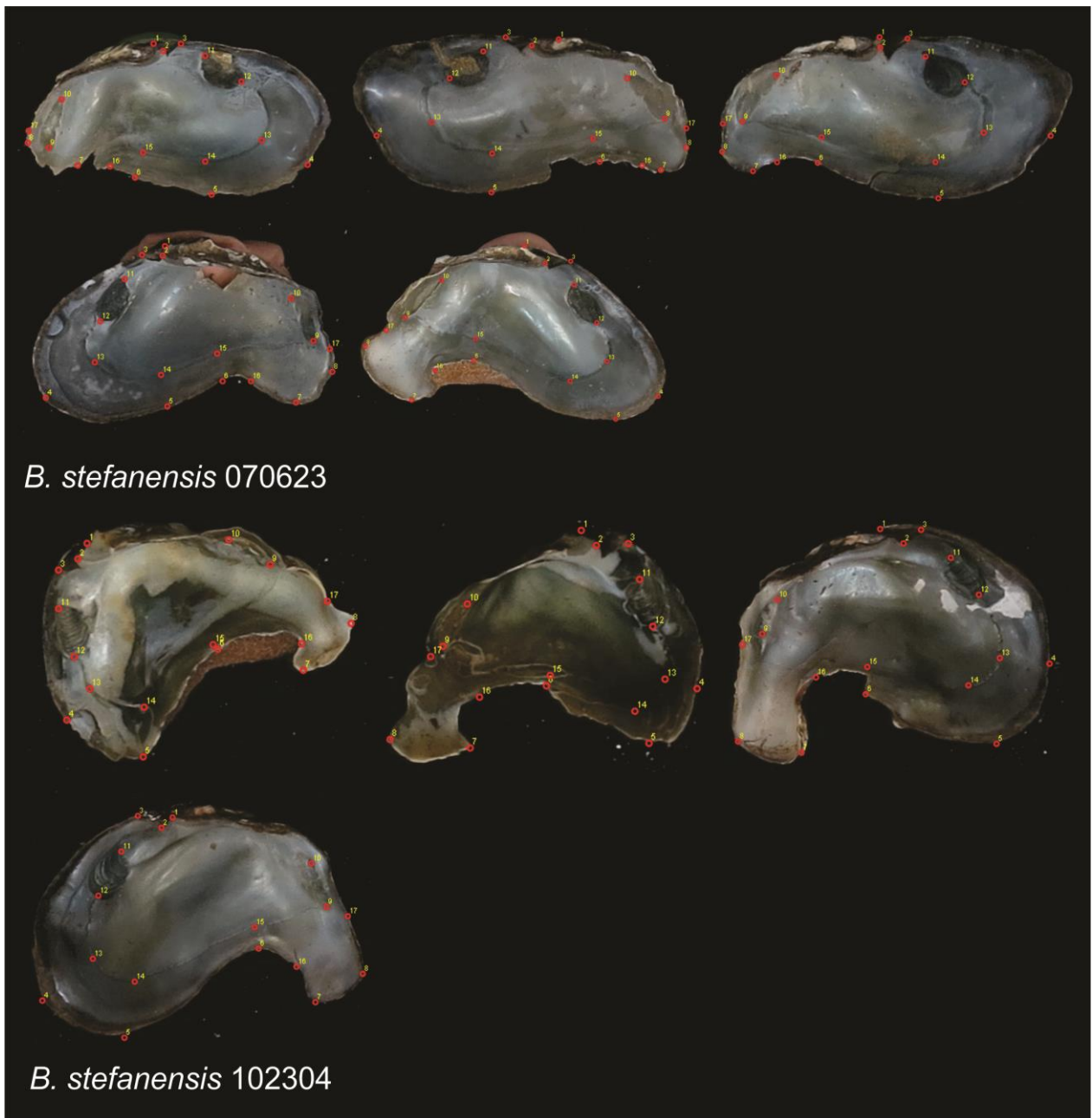
YONGE C.M., On the monomyarian, *Acostaea rivoli* and evolution in the family Etheriidae (Bivalvia: Unionacea). **Journal of Zoology, London**, 184, 429-448, 1978.

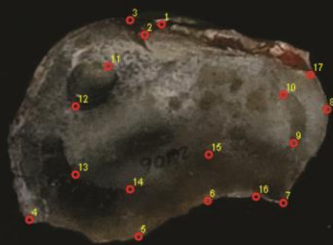
WOODWARD, M. E On the anatomy of Mulleriadalyi, Smith. Proceedings of the Malacological Socie O' of London, 3, 87-91, 1898.

APÊNDICE – A

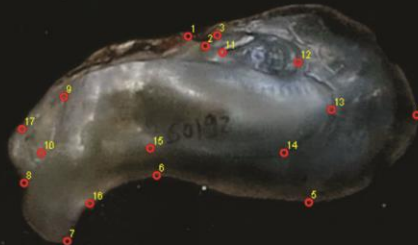
Imagens das espécies *Bartlettia stefanensis* utilizadas no estudo.



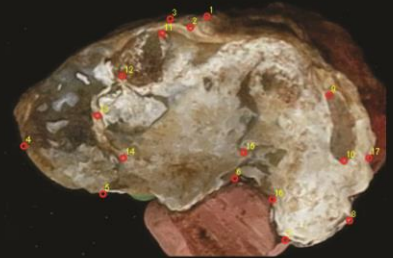




B. stefanensis 26106



B. stefanensis 26105



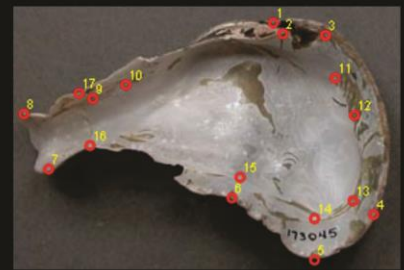
B. stefanensis 45559



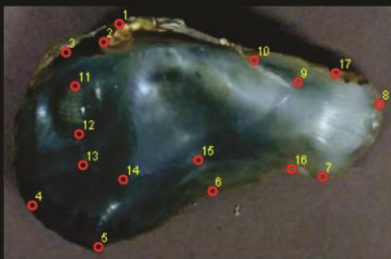
B. stefanensis 256



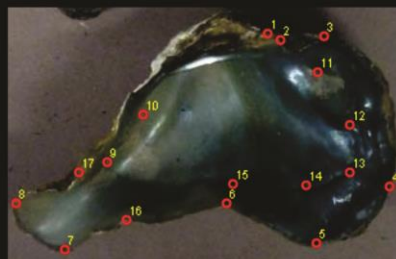
B. stefanensis 137132



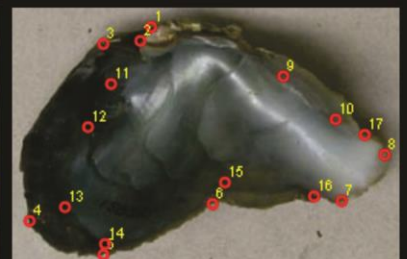
B. stefanensis 173045



B. stefanensis 93163



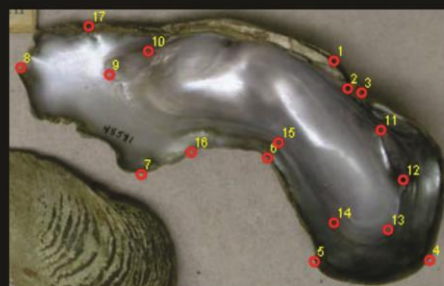
B. stefanensis 45526



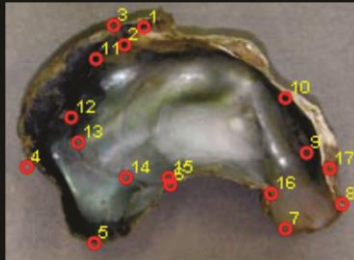
B. stefanensis 150021



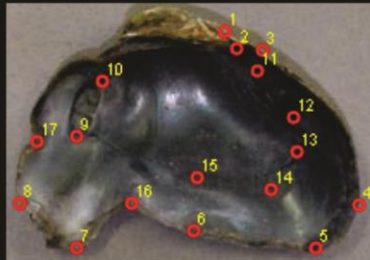
B. stefanensis 173154



B. stefanensis 48581



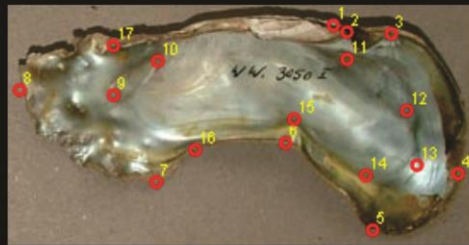
B. stefanensis 0430



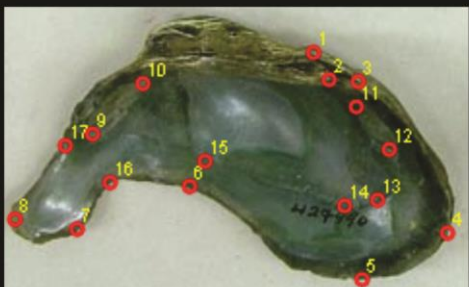
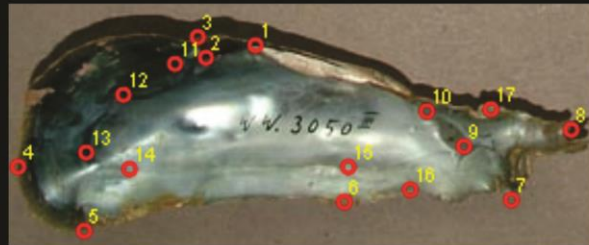
B. stefanensis 0430



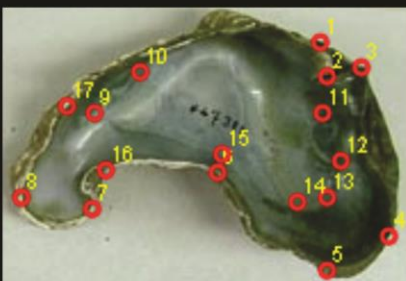
B. stefanensis 12278



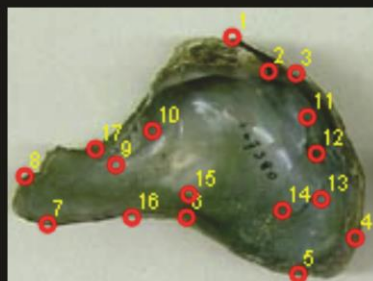
B. stefanensis 148111

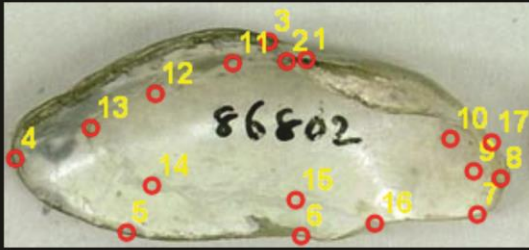


B. stefanensis 427990

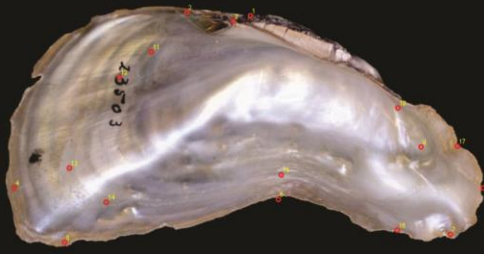


B. stefanensis 467380

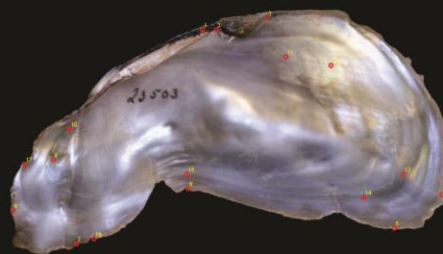




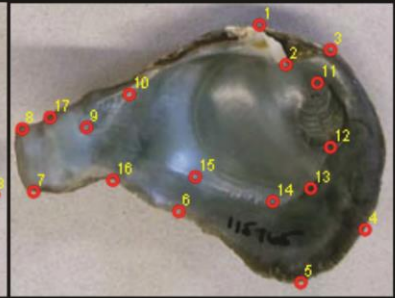
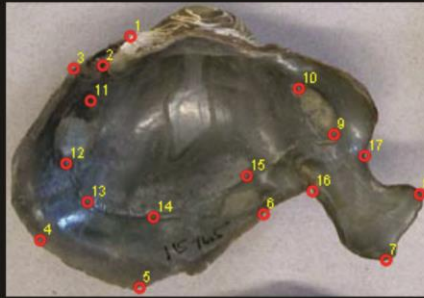
B. stefanensis 86802



B. stefanensis 23503



B. stefanensis 112674



B. stefanensis 115785